

ÜBER DIE FORENSISCH VERWERTBAREN PAPIER- UND
DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN DIFFERENZIERUNGSMÖGLICHKEITEN
BEI BARBITURATFREIEN HYPNOTICIS
IN VERBINDUNG MIT EIGENEN EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN
VON ACETYLDIÄTHYLBROMACETYLHARNSTOFF UND MECLOZINE

von

JÜRGEN HÖLZINGER

1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554813_0037

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. H. Leithoff)

ÜBER DIE FORENSISCH VERWERTBAREN PAPIER- UND
DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN DIFFERENZIERUNGSMÖGLICHKEITEN
BEI BARBITURATFREIEN HYPNOTICIS
IN VERBINDUNG MIT EIGENEN EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN
VON ACETYLDIÄTHYLBROMACETYLHARNSTOFF UND MECLOZINE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

JÜRGEN HÖLZINGER

aus Wiesbaden

MAINZ 1968

Dekan: Prof. Dr. L. Diethelm

Referent: Prof. Dr. H. J. Wagner

Korreferent: Prof. Dr. H. Leithoff

Tag der mündlichen Prüfung: 3. Februar 1968



Gesamtherstellung:

Ditters Bürodienst Mainz

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Literaturteil	1
I. Einleitung und Problemstellung	1
Tabelle A: Zusammenstellung der beschriebenen Pharmaka	5
II. Papierchromatographische Untersuchungen	10
1. Zusammenstellung der Literaturangaben	10
Tabelle 1-7: Aufschlüsselungen	10
Tabelle B : Angaben in der Literatur	16
2. Diskussion der Identifizierungsmöglichkeiten ...	39
a) Tabelle C: Rf-Werte, Metaboliten und Laufmittel	39
Diskussion	52
b) Tabelle D: Sprühreagenzien	56
Tabelle E: UV-Licht	63
Diskussion	64
III. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen	66
1. Unterschiede zur Papierchromatographie	66
2. Zusammenstellung der Literaturangaben	67
Tabellen 8-11: Aufschlüsselungen	67
Tabelle F: Angaben in der Literatur	71
3. Diskussion der Identifizierungsmöglichkeiten ...	87
a) Tabelle G: Rf-Werte, Metaboliten und Laufmittel	87
Diskussion	93
b) Tabelle H: Sprühreagenzien	94
Tabelle I: UV-Licht	97
Diskussion	99

	Seite
B. Experimenteller Teil	100
I. Problemstellung	100
II. Material und Methodik	101
III. Ergebnisse	104
IV. Diskussion	105
C. Zusammenfassung	108
D. Literaturverzeichnis	109

A. LITERATURTEIL

I. EINLEITUNG

Die Menge der von der pharmazeutischen Industrie neu auf den Markt gebrachten Medikamente und der Arzneimittelverbrauch der Bevölkerung nehmen ständig zu.

Die vom Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e. V. herausgegebene "Rote Liste" enthielt im Jahre 1949 etwa 4500 pharmazeutische Spezialitäten, 1961 wurden rd. 7500 Präparate der Herstellerfirmen erfaßt, 1965 waren es bereits ca. 8000.

Den starken Medikamentenverbrauch in der Bundesrepublik belegt eine bei K. WAGNER und H. J. WAGNER (79) zitierte Veröffentlichung des Allensbacher Institutes für Demoskopie. Von 2000 befragten Personen eines repräsentativen Bevölkerungsquerschnittes hatten 60 Prozent in den vorausgegangenen 14 Tagen Medikamente eingenommen. Im Zusammenhang mit der hier vorliegenden Arbeit ist bemerkenswert, daß 9 Prozent der Befragten angaben, es habe sich dabei um "Schlafmittel" gehandelt.

REINARTZ (60) untersucht die Bedeutung des Arzneimittelverbrauches für den verkehrsmedizinischen Bereich. Er überprüfte 500 unfallbeteiligte Fahrer - die allerdings eine örtliche Auslese darstellen - und fand bei 63 (= 12,6%) eine Medikamentenbeteiligung. Bei 3 - 4% war eine Beeinträchtigung der Fahrleistung auf diesen Umstand zurückzuführen. Die Präparate wurden nach Arzneimittelgruppen aufgeschlüsselt. Das Hauptkontingent stellten die Analgetika (18 - 28,6%), die Herz- und Kreislaufmittel (12 - 19%) und die Sedativa bzw. die Hypnotika (7 - 11,1% und 5 - 7%).

Über 2060 unter Alkoholeinfluß stehende Verkehrsteilnehmer berichtet H. J. WAGNER (75). Sie waren wegen eines Unfalls (67%) oder auf Grund auffälliger Fahrweise bzw. Polizeikontrollen (33%) einer ärztlichen Untersuchung zugeführt worden. Dabei wurde festgestellt, daß 11,1% in den letzten 24 Stunden ein Medikament eingenommen hatten. Wiederum stellten die Sedativa und Hypnotika mit 9,6% und 3% neben den Analgetika (50%) den Großteil der Pharmaka dar. Zusätzlich muß man berücksichtigen, daß viele der analgetischen Mischpräparate noch eine sedative Komponente besitzen!

Auffallend war, daß Fahrer, die sich unter Alkohol- und Schlafmitteleinwirkung befanden, zum größten Prozentsatz (71,1%) bereits erkannt wurden, be-

vor es zu einem Unfall kam. Es wird diskutiert, ob die Ausfallserscheinungen dabei schon so stark waren, daß eine längere Fahrzeugführung gar nicht mehr in Betracht kam. Umgekehrt verhielt es sich bei den Personen, die unter Sedativaeinwirkung standen. Hier lag die Unfallquote 10% über dem Durchschnitt. Auf Grund dieser und weiterer Untersuchungen kommen K. WAGNER und H. J. WAGNER (79) zu folgenden Ergebnissen:

Bei Überprüfung von über 5000 Verkehrsteilnehmern wurde festgestellt, daß 10,3% bis 12,6% in den vorausgegangenen 24 Stunden ein Medikament eingenommen hatten. Wurden ausschließlich die für die Verkehrssicherheit bedeutsamen Pharmaka berücksichtigt, so entfielen auf die Analgetika 28,6 - 66,6% und auf die Sedativa und Hypnotika 7,4 - 19,1%. Die übrigen Präparate (Stimulantien, Weckamine, starkwirkende Analgetika wie Morphin und Rauschmittel im engeren Sinne, psychotrope Substanzen und Präparate gegen Fettsucht) bilden demgegenüber nur eine kleine Gruppe. Die Autoren erklären in diesem Zusammenhang, bei Behandlung mit Barbitursäurederivaten könne die Führung eines Kraftfahrzeuges nicht verantwortet werden. Diese Forderung läßt sich in gleichem Maße für stark wirksame barbitursäurefreie Hypnotika erheben.

Unter dem Begriff der barbitursäurefreien Hypnotika oder "Nichtbarbiturate" faßt man die Schlafmittel zusammen, die Derivate der Alkoholgruppe, des Chinolins, des Harnstoffes und des Pyridins bzw. Piperidins darstellen. Bis vor wenigen Jahren unterlagen sie im Gegensatz zu den Barbitursäureabkömmlingen keiner Rezeptpflicht. Dies erleichterte einerseits die Verwendung in suizidaler Absicht, andererseits brauchte eine ärztliche Kontrolle nicht stattzufinden. Der Umstand der Rezeptfreiheit konnte beim medizinischen Laien den Eindruck der Unschädlichkeit erwecken und ihn in der Wahl der Dosis leichtfertiger werden lassen. Heute sind von den in dieser Arbeit besprochenen "Nichtbarbituraten" nur die Bromharnstoffderivate und das Methypyrylon rezeptfrei.

Dem Einfluß all dieser Hypnotika auf die Fahrfähigkeit müßte stärker Rechnung getragen werden. Bei der Mehrzahl dieser Arzneimittel findet sich noch nicht einmal ein Hinweis auf die Gefahren, die einem Kraftfahrer bei Nichteinhalten der Mindestdosis drohen können. Die Wirkung des Alkohols auf die Fahrleistung ist dagegen jedem Verkehrsteilnehmer hinreichend bekannt. Die Abnahme einer Blutprobe bei vorliegendem Verdacht auf Alkoholeinwirkung wird als gerechtfertigt und notwendig angesehen. Man sollte aber auch nicht darauf verzichten, Blut oder Urin auf toxisch wirkende Verbindungen zu unter-

suchen, falls ein folgenschweres und zunächst unverständliches menschliches Versagen im Verkehr vorliegt (H. J. WAGNER (78)). Mit der Abnahme einer Harnprobe ist heute nur bei rechtzeitigem Bekanntwerden einer Sucht oder bei einer Schutzbehauptung des Verkehrsteilnehmers zu rechnen. Bereits eine Harnmenge von 30 ml aber dürfte für papier- oder dünn-schichtchromatographische Untersuchungen ausreichen und einen sicheren Nachweis ermöglichen (VIDIC (73)). Gerade diese beiden Verfahren erscheinen für solche Urinuntersuchungen auf Arzneimittel - und dabei besonders auch auf Hypnotika und Sedativa - wegen ihrer relativ leichten Ausführbarkeit gut geeignet zu sein.

In der forensisch-toxikologischen Praxis gehören diese beiden Methoden zu den Standardverfahren, wenn es gilt, beispielsweise eine Schlafmittelvergiftung zu klären. Liegt klinisch der Verdacht auf eine solche Intoxikation vor, und ist Eile geboten, um diesen zu sichern oder auszuschließen, so wird man wegen der wesentlich kürzeren Laufzeit die Dünnschichtchromatographie der Papierchromatographie vorziehen. Dieser zeitliche Faktor verliert seine Bedeutung bei der Nachweisführung aus Asservaten von Leichen, wie Blut, Urin, Mageninhalt oder Gewebe. In der Regel wird man sich aber nicht nur auf ein Verfahren beschränken, sondern noch die eine oder andere Bestimmungsmethode heranziehen. Man wird dazu die "klassischen" Methoden der Gruppenreagenzien (Tüpfelreaktionen), Mikrokristallfällung, Thermomikromethoden oder die neueren der Spektrographie, Infrarotspektrographie und Gaschromatographie benutzen.

In der psychiatrischen Klinik kann man sich der Papier- und Dünnschichtchromatographie bedienen, um die Einnahme von Sedativa und Hypnotika, die aus Sucht oder Gewöhnung erfolgt, festzustellen bzw. zu überwachen. Die Untersuchung des Patientenurins läßt sich schnell und verhältnismäßig einfach durchführen.

Die Bedeutung, die diesen beiden Methoden in der Analytik der Pharmazeuten und Pharmakologen zukommt, mag man daraus ersehen, daß gerade aus diesen Gebieten der Wissenschaft ein Großteil der in dieser Arbeit gesammelten Literatur über papier- und dünn-schichtchromatographische Untersuchungen von Hypnotika stammt.

Der weite Anwendungsbereich und die Tatsache, daß die methodische Durchführung so viele Variationsmöglichkeiten zuläßt, führte zu einer fast nicht mehr überschaubaren Fülle von Publikationen, bei der Papierchromatographie in den Jahren nach dem Kriege beginnend, bei der Dünnschichtchromatographie mit den grundlegenden Arbeiten von STAHL (68) 1958. Auch über Un-

tersuchungen mit Hypnotika liegen so viele Veröffentlichungen vor, daß es wünschenswert erschien, das zur Verfügung stehende Material zu sichten und die Grundlage für eine Zusammenfassung und damit Vergleichsmöglichkeit der bisherigen papier- und dünn-schichtchromatographischen Ergebnisse zu schaffen. Aus den einzelnen Arbeiten wurden Extrakte, Rf-Werte, Papiersorten (Art der Glasplatten), Laufmittel, Sprühreagenzien, UV-Licht-Nachweis und Metaboliten übernommen und abschließend einer vergleichenden Überprüfung unterzogen.

Für die vorliegende Arbeit interessierten nur barbitursäurefreie Schlafmittel. Grundsätzlich wurden die von NEGWER (47) als "Hypnotikum" deklarierten "Nichtbarbiturate" in die Zusammenstellungen aufgenommen. Die Grenze zwischen den Hypnotika und den Sedativa und damit auch den Antiemetika ist aber nicht immer eindeutig zu ziehen. Oft entscheidet nur die Dosierungshöhe über den gewünschten Effekt. Deshalb wurden auch einige Pharmaka, die vom Hersteller u. a. als Schlafmittel bezeichnet wurden, berücksichtigt, obwohl sie von NEGWER zu den Sedativa bzw. Antiemetika gerechnet werden (vgl. Anmerkung (3,4) S. 9 !). Da in verschiedenen Publikationen über barbitursäurefreie Sedativa und Hypnotika auch Antiepileptika der Hydantoinreihe beschrieben waren, wurden diese Angaben mitverwertet. Sie erheben allerdings keinen Anspruch auf Vollständigkeit, weil sonst nicht gesondert nach Literatur über Antiepileptika gesucht wurde.

Für die Sammlung der Literatur waren die am Ende des Literaturverzeichnisses aufgeführten Nachschlagewerke, wie sie im September 1965 in der Mainzer Universitätsbibliothek vorlagen, maßgebend. Das bedeutet, daß die Original-literatur bis etwa Ende 1964 erfaßt wurde. Auf Arbeiten, die vor 1954 erschienen waren, wurde nicht eingegangen. Die über die Mainzer Universitätsbibliothek und die innerdeutsche Fernleihe bestellten Schriften, die bis Januar 1966 nicht zu erhalten waren, konnten nicht mehr berücksichtigt werden.

Tabelle A gibt eine Übersicht über die in der Arbeit behandelten Pharmaka. Die von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als nicht wortgeschützt vorgeschlagenen bzw. für verbindlich erklärten Namen, wie sie NEGWER (47) angibt, sind mit einem (+) gekennzeichnet. Wo kein Freiname vorliegt, ist der systematische Name angegeben. Außerdem werden systematischer Name und Synonyme nach NEGWER (47) aufgeführt. Da aus den Angaben von NEGWER (47) nicht ersichtlich ist, ob ein Präparatname warenzeichenrechtlich geschützt ist, können hierzu keine Angaben gemacht werden.

Tabelle A: Zusammenstellung der beschriebenen Pharmaka

Abkürzungen in den Tabellen	Freiname	systematischer Name	Synonyma
I. Alkohol-Gruppe			
CRB	Äthylchlor- vinyl-Äthinyl- carbinol	Äthyl-β-chlor- vinyl-äthinyl- carbinol	Ethchlorovynol, Ethchlor- vinyl, Ethochlorvynol, Plac- idyl, Roeridorm "Roerig" ¹⁾
BUT	Methyldihydroxy- phenylbutin ¹⁾	3-Methyl-3,4- dihydroxy-4- phenylbutin-1 ¹⁾	Centalun ¹⁾
PEN	Methylpenty- nol ⁺	3-Methylpentin- (1)ol-(3)	Allotropal ³⁾ , Atemorin, Atempol, Citodorm "Haury", Dalgol, Dorison, Dormalest, Dormiphen "Darck", Dor- mison, Dormocit, Dormo- san, Hexofen, Imnudorm, Insomnol, Mecarol, Melpin- tol, Meparfynol, Mepentil, Methylparafynol, M-Penty- nol, Noxokratin, Oblevil, Oblivon, Olvador, Penta- dorm, Pentinol, Perlopal, Profundol, Quietal, Riposon, Seral, Somnesin, Somnor- mon, Util
II. Chinolin-Derivate			
QUA	Methaqualone- hydrochlorid ⁺	2-Methyl-3-0- tolyl-4(3H)- chinazolinon	Melsedin, Merapiran, Nor- mi-Nox, QZ-2, Revonal, TR 495, Tuazolehydrochlor- id

Abkürzun- gen in den Tabellen	Freiname	systematischer Name	Synonyma
III. Harnstoff-Derivate			
ACE	Acetyldiäthyl- bromacethyl- harnstoff	N-Acetyl-N- diäthylbrom- acetylharnstoff	Abasin, Acetcarbromal, Acetyladalín, Acetylcar- bromal, Adityl, Carbased, Sedamyl, Sedmynol
ALL	Äthinylcyclo- hexylallophanat ⁵⁾	1-Äthinylcyclo- hexylallophanat-(1)	Dolcental
APR	Apronalide + ⁵⁾	Allylisopropylace- tylcarbamid	Apronal, Isodormid, Se- dormid
BRO	Bromisoval +	α -Bromisovaleri- anylharnstoff	Abroval, Achibromit, Albo- man, Albroman, Alluval, Alphabroom, Alural, Bar- bibrom, BBH-Tabletten, B. A. V., Bromeval, Brom- herbal, Bromisan, Bromo- dorm, Bromovalcarbamid, Bromovalharnstoff, Bromo- valurée, Bromural, Bromu- ran, Bromurea, Bromuresan, Bromuvan, Bromvaleryl, Bromvaleton, Bromyl, Bro- val, Brovalurea, B. V. U., Dagrrabromyl, Dormigen(e), Dormoformtabletten, Er- brol, Ergobromin, Hansa- dorm, Hypnoval, Isobromyl, Isonaurin, Isoval, Leuner- val, Magnal, Melosan, Mündorman, Pivadorme, Plenabural, Sedural, Somni- brom, Somnurol, U. B. V. - Tabletten, Upiol, Uvaleral, Valurea, Verobroman

Abkürzun- gen in den Tabellen	Freiname	systematischer Name	Synonyma
CAR	Carbromal ⁺	α -Bromdiäthyl- acetylcarbamid	Adabrom "Hosco", Adalin, Addisomnol, Adormin, Arulón, Beridormin, Bra- cethyl, Brevisomnol, Brom- adal, Bromadyl, Carbadal, Diacid, Dibroluur, Dityl, Divalentyl, Dulcipan, Effelin, Fydalex, Hyperysin, Hypnobroom, Isadin, Iso- broval, Nyctal, Optodorm, Parkosed, Persomnin, Pla- nadalín, P. R. "Boots", Rastalid, Sedadorm, Seda- mon, Servadorm, Somben, Somnalín, Tildin, Uradal, Zoridorm
ETH	Ethinamate ⁺	1-Äthinylcyclo- hexylcarbamit	Valamin(etten), Valmid, Valmidate, Volamin

IV. Hydantoin-Derivate

HYD	Äthylphenylhydan- toin ^{2, 5)}	5-Äthyl-5- phenyl- hydantoin	Nirvanol
MEP	Mephenytoine ⁺ ²⁾	3-Methyl-5- äthyl-5-phenyl- hydantoin	Convulsan, Epilan, Epital, Insulton, Mefenetoin, Me- santoin, Mesontóin, Metho- in, Methylphenetoin, Methydan, Sacerno, Se- dantoin(al), Triantoin
PHE	Pheytoin ⁺ ²⁾	5, 5-Diphenyl- hydantoin	Alepsin, Anteplepsin, Anti- sacer, Auranile, Citrulla- mon, Dantoin(e), Denyl, Difhydan "Leo", Di-Hydan,

Abkürzun- gen in den Tabellen	Freiname	systematischer Name	Synonyma
PHE			Dilantin, Dintoina, Diphan- toine, Diphedan, Diphenin, Diphentoin, Di-Phétine, Epanutin, Epifenyl, Epihy- dan, Epilan-D, Epilantin, Epinat, Eptal, Eptoin, Fe- nantoin, Fenitoina, "Hydan- toin", Hydantoinal, Idan- toil, Idantoin, Lepitoin, Novantoina, Phénantine, Phenantoin, Saceril, Sodan- ton, Solantoin, Solantyl, Sylantoic, Tacosal, Zentro- nal, Zentropil

V. Pyridin-Piperidin-Derivate

DIH	Dihyprylon ^{+ 5)}	3. 3-Diäthyl- 2. 4dioxopiperi- din	Nu-1510, Piperidion, Sedi- lan, Sedulon
GLU	Glutethimide ⁺	3-Pheyl-3-äthyl- 2. 6. dioxopiperi- din	C 11511, Doriden, Elrodorm, Glimid, Glutäthimid, Glu- tetimide, Noxyron, Saro- dormin
MEC	Meclozine ⁺⁴⁾	1-p-Chlorbenz- hydryl-4-m- methylbenzyl- piperazin	Ancolan, Bonadettes, Bona- mine, Bonine, Calmonal ¹⁾ , Histamethine, Histaméthi- zine, Histametizyn, Marex, Meclizine, Navicalm, Neo- Istafene, Parachloramine, Postafen(e), Sea Legs, Su- primal, U. C. B. 5062
MET	Methyprylon ⁺	2. 4. Dioxo-3. 3- diäthyl-5-methylpi- peridin	Dimerin, Noctan, Noludar

Abkürzungen in den Tabellen	Freiname	systematischer Name	Synonyma
PYR	Pyrithyldione	3. 3-Diäthyl-2. 4-dioxotetrahydro-pyridin	Benedorm, Nu-903, Perse-don, Presidon, Pyridion, Tetridin
THA	Thalidomide ⁵⁾	N-Phtalylglutamin-säureimid	Isomin K 17, Kevadon, Lulamin, Neosedyn, Neurodyn, Neurosedyn, Pantosediv, Sedalis, Sedimide, Softenon, Talargan

Anmerkungen:

- (1) von NEGWER (47) nicht aufgeführt, s. "Rote Liste" (61)!
- (2) von NEGWER (47) als "Antiepileptikum" beschrieben.
- (3) von NEGWER (47) als "Sedavivum" beschrieben. Das Handelspräparat wird vom Hersteller u. a. als "Hypnotikum" bezeichnet.
- (4) von NEGWER (47) als "Antiemetikum" und "Antihistaminikum" beschrieben. Das Handelspräparat wird vom Hersteller u. a. als "Hypnotikum" bezeichnet.
- (5) in Deutschland als Präparat nicht oder nicht mehr im Handel.

II. PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN

1. Zusammenstellung der Literaturangaben

In Tabelle B finden sich, geordnet nach den einzelnen Pharmaka, die in der Literatur vorgefundenen Angaben über Extrakte, Papiersorten, Laufmittel, Rf-Werte, Sprühreagenzien, Nachweis im UV-Licht und Metaboliten.

Für die Aufschlüsselung der verwandten Zahlen und Abkürzungen sind die Tabellen 1 - 7 nötig.

Tabelle 1:		Allgemeines
DC	=	Dünnschichtchromatographie
Laufm.	=	Laufmittel
Lit.	=	Literaturstelle
PC	=	Papierchromatographie
Pl.	=	Platte
Rf	=	Rf-Wert ($R_f \times 100$)
UV	=	UV-Licht
+	=	positives Ergebnis
()	=	unbeständiges Auftreten bzw. schwache Reaktion
Ø	=	negatives Ergebnis
-	=	keine Angaben
→	=	Reaktion verläuft von . . . nach
$\frac{r}{v}$	=	Fleckenfarbe auf farbigem Untergrund (z. B. roter Fleck auf violetterm Grund)

Tabelle 2:		Extrakte
B	=	Blut
G	=	Gewebe
Ga	=	Galle
Ge	=	Gehirn
H	=	Haut
K	=	Körperflüssigkeiten
M	=	Magensaft
m	=	Metabolit
O	=	Organe
U	=	Urin
V	=	Verdauungstrakt

Tabelle 3: Farben

B	=	braun	R	=	rosa
b	=	blau	r	=	rot
d	=	dunkel	s	=	schwarz
G	=	gelb	t	=	türkis
g	=	grau	v	=	violett
h	=	hell	w	=	weiß
k	=	karmin	x	=	grün
o	=	orange	y	=	ocker
p	=	purpur	z	=	ziegelrot

Tabelle 4: Papier

1	=	Schleicher und Schüll 2043 d Mgl
2	=	Schleicher und Schüll 2043 b
3	=	Schleicher und Schüll 2043 b Mgl
4	=	Schleicher und Schüll 2045 b
5	=	Schleicher und Schüll 2045 b gl
6	=	Schleicher und Schüll 2045 b M
7	=	Schleicher und Schüll 2043 b + Propylenglykol in Methanol
8	=	Schleicher und Schüll 2043 b + 1.2-Propylenglykol (30%) in Äthanol
9	=	Schleicher und Schüll 2040 b gl + Dimethylformamid (20%, äthanol.)
10	=	Schleicher und Schüll 2043 b + Dimethylformamid (20%, äthanol.)
11	=	Schleicher und Schüll 2043 b + Dimethylformamid/Äthylenglykol
12	=	Schleicher und Schüll 2043 b Mgl + Dimethylformamid (20%, äthanol.)
13	=	Schleicher und Schüll 2045 b gl + Dimethylformamid (20%, äthanol.)
14	=	Schleicher und Schüll 2043 a + Dimethylformamid/Aceton
15	=	Schleicher und Schüll 2043 b ac (niedrig acetyliert)
16	=	Whatman 1
17	=	Whatman 2
18	=	Whatman 1, vorbehandelt mit Natriumcarbonat

Fortsetzung Tabelle 4: Papier

20	=	Niederschlag WF 14, vorbehandelt
21	=	Niederschlag WF 15, vorbehandelt
22	=	Niederschlag WF 16, vorbehandelt
23	=	Niederschlag WF 16 + Dimethylformamid (20%, äthan.)

An merkung: Laut Angabe von Schleicher und Schüll haben die Papier 2/3, 4/5/6 und 10/12 jeweils dieselben Saughöhen.

Tabelle 5: Laufmittel

1	=	Methanol
2	=	Methanol/Wasser (1/2)
3	=	Methanol/Salzsäure (n/10) (1/1)
4	=	Dimethylformamid/Methanol/Wasser (25/70/5)
5	=	Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (45/45/10) ("DEININGER")
6	=	Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (51/36/13)
7	=	Dioxan/Xylol/Toluol/Isopropanol/Ammoniak (25%) (1/2/1/4/2)
8	=	n-Butanol/Ammoniak (5n) (1/1) ("ALGERI-WALKER")
9	=	n-Butanol/Ammoniak (25%) /Wasser (20/1/7)
10	=	n-Butanol/Ammoniak (3%)
11	=	Butanol/Ammoniak/Wasser (100/66/33)
12	=	n-Butanol/Ameisensäure (15%) /Wasser (12/1/7) ("JATZKEWITZ")
13	=	Butanol/Ameisensäure/Wasser (11/1/7)
14	=	Butanol/Essigsäure
15	=	n-Butanol/Eisessig /Wasser (40/10/50)
16	=	n-Butanol/Metanol/Ammoniak (25%) (120/40/40)
17	=	n-Butanol/Isoamylalkohol (50/50) + Ammoniak (konz.)
18	=	Cyclohexanol/n-Butanol
19	=	n-Butanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (120/55/25) ("SEIFERT")
20	=	Isoamylalkohol/Ammoniak (wässrig)
21	=	Toluol/Ammoniak (10/1)
22	=	Toluol/Eisessig (10/1)
23	=	Toluol/Eisessig (10/2)
24	=	Toluol/Eisessig/Wasser (10/4/5)
25	=	Toluol/Eisessig/Wasser (10/4/2)
26	=	Toluol/Butanol/Eisessig/Wasser (9/2/4/5)
27	=	Diäthyläther

28	=	Äther/Pentan (3/1)
29	=	Äther/Pentan (1/3)
30	=	Di-n-butyläther
31	=	Butyläther/Methylcellosolve/Butanol/Wasser (10/1/1/1)
32	=	Dibutyläther/Isopropyläther/Methylcellosolve/Essigsäure (5%) (10/1/1/1)
33	=	Petroleum Äther/Methynol
34	=	Petroläther/Dioxan (50/20)
35	=	Chloroform
36	=	Ameisensäure/Chloroform/Äthanol
37	=	Methylal /Dekanin/Chloroform/n-Hexan (11/3/3/8)
38	=	B50/D20 - Benzin/1.4-Dioxan (5/2)
39	=	Ligroin ("RIEDEL DE HAEN")/Dioxan (37 Vol%, "MERCK")
40	=	Benzin/Butanol (wassergesättigt) 100/3)
41	=	Dimethylformamid/Benzin-Dioxan
42	=	Dimethylformamid/Dioxan-Ligroin (2:5)
43	=	Dimethylformamid/Caclohexan
44	=	Cyclohexan
45	=	Benzol
46	=	Benzol/Essigsäure/Wasser
47	=	Äthylendichlorid
48	=	Äthylenchlorid/Natronlauge (0,5 m)
49	=	Methylketon/Alkohol/Wasser (70/15/15)

Tabelle 6: Sprühreagenzien

1	=	Benzidin/Kaliumjodid
2	=	Benzidin/Kaliumjodid/Bromdämpfe
3	=	Benzidin/Kaliumjodid/Chlor
4	=	Bromphenolblau
5	=	Chlor/Kaliumjodid/Stärke
6	=	p-Dimethylaminobenzaldehyd in Schwefelsäure
7	=	m-Dinitrobenzol/Kalilauge
8	=	m-Dinitrobenzol (1%, methanol.)/Kalilauge (20%, methanol.)
9	=	2.4-Dinitrophenylhydrazin in Trichloressigsäure (50%)
10	=	Eisen -(III)-chlorid
11	=	Eisen -(III)-chlorid (0,37 m, salzsauer)/Hydroxylamin (2 m, alkohol.)
12	=	Fluoreszein/Perhydrol

Fortsetzung Tabelle 6: Sprühreagenzien

13	=	Fluoreszein in Eisessig/Perhydrol/Kupferazetat/Kalilauge (alkohol.)
14	=	Goldchlorid/Natronlauge
15	=	Hydroxylamin
16	=	Hydroxylamin/Natronlauge
17	=	Joddampf
18	=	Kaliumbichromat (1%)/Schwefelsäure (5%)
19	=	Kaliumferricyanid (1, 6%)/Kalilauge (2n)
20	=	Kalilauge (1%, alkohol.)
21	=	Kalilauge (5n)/Äthanol (20/100)
22	=	Kaliumpermanganat
23	=	Kobaltnitrat/Isopropylamin
24	=	Kobaltnitrat/Äthanol/Ammoniak oder Isopropylamin
25	=	Kupfersulfat/Pyridin/Diphenylcarbazon (0, 1%, äthanol.)
26	=	Murexidreaktion
27	=	Ninhydrin
28	=	Nitroprussidnatrium
29	=	Palladium- (II) -lösung (1%)
30	=	Phosphormolybdänsäure
31	=	Quecksilber-(I)-nitrat
32	=	Quecksilber-(II)-chlorid/Diphenylcarbazon
33	=	Quecksilber-(II)-chlorid/Eosin
34	=	Radioaktive Markierung
35	=	Reagenz nach DRAGGENDORFF bzw. MUNIER-MACHEBOEUF (Wismutsubnitrat/Kaliumjodid/Eisessig/Wasser)
36	=	Reagenz nach EHRLICH (p-Dimethylaminobenzaldehyd in Salzsäure)
37	=	Reagenz nach MILLON (Quecksilber/Salpetersäure/Wasser)
38	=	Reagenz nach RYDON und SMITH (s. SATO (62))
39	=	Reagenz nach THIES und REUTHER (modifiziert) (Wismutcarbonat/Natriumjodid/Eisessig/Essigsäureäthylester)
40	=	Salpetersäure/Ammoniak
41	=	Schwefelsäure (10%, konz.) in Äthanol
42	=	Silbernitrat
43	=	Silbernitrat (ammoniakal.)
44	=	Silbernitrat/Kaliumbichromat

- 45 = Silbernitrat/Kaliumbichromat/Natronlauge
- 46 = Silbernitrat/Natriumhodizonat
- 47 = Sulfanilsäure (diazotiert in alkohol. Lösung)
- 48 = Verseifung, Oxydation und Entwicklung mit Fluoreszein

Tabelle 7: UV-Licht

- 1 = UV-Licht
- 2 = UV-Licht (254 m μ)
- 3 = Alkalische Vorbehandlung mit Alkali oder Ammoniak
- 4 = Alkohol/Kalilauge (5n) (5/1)
- 5 = Kaliumferricyanid (16%)/Kalilauge (2n)
- 6 = Fluoreszenz im UV-Licht
- 7 = Licht nach WOOD

Tabelle B: Angaben in der Literatur

Extrakt	Papier	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
				METHYL-DIHYDROXYPHENYLBUTIN (BUT)		
	-	5	90	$22\frac{h}{R}/29G/31s/37G$	-	8
					in vivo	
U			85	)		
m ₁	-	5	70	) $22\frac{h}{R}/31s$	-	8
m ₂			40	)		

Es werden 2 Metaboliten angegeben(s. DC, Methylidihydroxy-phenylbutin!)

METHYLPENTYNOL (PEN)

					in vitro	
14	44	45	20hG→ B	-	80	
					in vivo	

Die Reinsubstanz ergibt keinen Flecken, sondern erst das nach Oxydation zu bildende Hydrazone.

Mit der Dünnschichtchromatographie sind 4 Metaboliten bei Fehlen der unveränderten Substanz beschrieben (s. DC, Methylpentynol!)

METAQUALONEHYDROCHLORID (QUA)

METAQUALONEHYDROCHLORID (QUA)				in vitro
2	8	90	)35o/36B/ø: 31/47)	- 26
	12	90		
23	42	50	)35r)	- 80
	43	33		
in vivo				
2	8	90	)35o/36Bø: 31/47)	- 26
	12	90		
L				

Es werden in vivo eine unveränderte Substanz, aber keine Metaboliten beschrieben. Bei dünnsschichtchromatographischen Versuchen sind 4 Metaboliten ohne die unveränderte Substanz angegeben (s. DC, Metaqualonehydrochlorid!)

ACETHYLDIÄTHYLBROMACETYLHARNSTOFF (ACE)

ACETHYLDIÄTHYLBROMACETYLHARNSTOFF (ACE)				in vitro
2	8	82	(31)/ø: 10/22/ 35/36/47	1 65
	12	88		
-	-	-	45r/ø: 44	- 27
				in vivo
18	27	87		
	30	82	- - -	2 43
	35	93		

Metaboliten sind bisher nicht bekannt.

BROMISOVAL (BRO)			in vitro	
11	37	53	1/13r/φ:8/15/ 18/31/35/41/46	- 15
2	8 12	90 87	X(31)/φ:10/22/ 35/36/47	) 1) 65
12	38	-	3/26r	- 39
12	34	40	)3Gx→ hx/5b/3B/12r/	
-	40	21	)17G/24v/36mod.G/	
10	37	53	)39g	
3	8	90	)φ: 4/6/11/18/30/	
3	12	87	)31/35/37/41	
9	)	44	)	
12	)	40	)	- 37
13	)	47	)	
20	)34	36	)	
21	)	47	)	
22	)	35	)	
-	-	-	45r/φ:44	- 27

Extrakt	Papier	Laufm	Rf.	Sprühareagenz	UV.	Lit.
BROMISOVAL (BRO)						
U	6	21	27	44	-	74
		27	90		)	
18		30	84	-	) 2	43
		35	89		)	
		20	85	)		
-		13	86	)48Rr	-	64
		49	Front	)		

Es werden eine unveränderte Substanz, aber keine Metaboliten angegeben. In der Dünnschichtchromatographie liegen 6 Metaboliten vor, über die Ausscheidung einer unveränderten Substanz liegen unterschiedliche Angaben vor (s. DC, Bromisoval!).

CARBROMAL (CAR)				in vitro	
11	37	67	1/13r/Ø:8/15/18 31/35/41	-	15
2	8 12	90 90	) (31))	) 1)	65
12	38		3/26r		39

12	34	62	)	
	40	63	)	
10	37	67	)	
3	8	90	)	
3	12	90	)	
9	)	68	)	
12	)	62	)	
13	)	80	)	
20	)	55	)	
21	)	71	)	
22	)	51	)	
-	-	-	45r/φ:44	27

				in vivo
U	6	21	44	74
U	2	8 12	)φ:10/22/35/36/47)	1 65
U			31	1
			31	1
			31	-
			31	1
			-	1
			23	1

Extrakt	Papier	Laufn	Rf.	Sprühareagenz	UV.	Lit.
Fortsetzung:						
CARBROMAL (CAR)						
B		45	80			
	(	45	58		)	
	(	47	80		)	
m ₁	(¹⁷	35	90	-	) 1	10
	(	45	24		)	
m ₂	(	47	60		)	
	(	35	72		)	
		27	87		)	
	18	30	88	-	) 2	43
		35	92		)	
		20	90	)		
	16	13	88	)48 Rr	-	64
		49	Front	)		

Es werden neben unveränderter Substanz bis zu 4 Metaboliten angegeben. Davon sind drei in ihrer chemischen Struktur geklärt:

1. α -Äthyl- α -oxybuttersäure = m₁ (65), m₄ (32)
2. 2-Äthylbutyrylurea = m₁ (10)
3. Hydroxycarbomal = m₂ (10)

ETHINAMATE (ETH)

in vitro

11	37	61	1/31/46hr Ø:8/13/15/ 18/35/41	-	15
12	38	-	3/26r/27	-	39
12	34	48	)		
-	40	45	)		
10	37	61	)3G→ v/5b		
3	8	85	) (8rB)/(11r)/(12G)/		
3	12	85	) 17B/(18B)/31B/35r/		
9	)	46	) 36mod.G/37b/39Gr/	-	
12	)	48	) 41v		
13	) 34	58	) Ø:4/6/24/30		37
20	)	39	)		
21	)	48	)		
22	)	37	)		
4	22	76	) 2/14/(22)/(27)/31/	) Ø:3)	27
	25	77	) 32/33/42/44wG/45gx		
			) Ø:7/9/23/25/35		

in vivo

U	21	75	31gB		
U	)	-	-		
m ₁	)	04	31		
m ₂	) 26	22	31gB		74
m ₃	)	28	31gB	-	
m ₄	)	43	31		

Extrakt	Papier	Laufm.	Rf.	Spüthreagenz	UV.	Lit.
Fortsetzung: ETHINAMATE (ETH)						
U	2	5	94	) ₃₁)		45
m ₁			80-81	)		
U			86	)		
m ₁	16	8	02	) ₃₄	-	44
m ₂			73	)		
U	(	8	85	) _{22G/31/35z/}) _{36r/47G Ø:10}	) _{Ø:1})	
	(	12	85			65
m ₁	(	8	74	) _{10gB/31/36r})	) ₆)	
	(	12	85			
O	2	3	75	) _{46 $\frac{I}{V}$})	-	20, 63
		2	85			
U	)	)		)		
m _{1a}	)	)	33	)		
m _{1b}	)	)	46	)		
m _{2a}	) ₂	) ₂₈	59	) ₃₁		56
m _{2b}	)	) ₂₉	67	)	-	
m _{3a}	)	)	78	)		
m _{3b}	)	)	67	)		
m ₄₋₆	-	-	-	-		

B	)								
m ₁₋₅	)								
G/L	)								
m ₁	)								
(m ₂)	)	7	39	-	31				56
(m ₄)	)								
H	)								
m ₁	)								
(m ₂)	)								
(m ₄)	)								
(m ₅)	)								
U			18	96	31GB→B				
U			39	72	31				
m ₁			18	82	31GB→B				
m ₁	8		39	12	31GB→B				53
m ₂			-	-	31GB→B				
(m ₃)			-	-	31G→g				
(m ₄₋₆)			-	-	31g				
U	8		39	62	7/31g/32				52
U			3	75	) ₄₆ ^r				
U	-		2	85	) _{bv}				19
B	6		21	-	31				73
U				81				1	
m ₁	15		16						32
m ₂				64	31				
U	-		10	80	43				62

Fortsetzung:

ETHINAMATE (ETH)

Es werden 6 Metaboliten angegeben, die unveränderte Substanz soll nicht regelmäßig nachweisbar sein, ebenso nicht m₃-6 (53).
m₁ = Hydroxyethinamate (53, 54, 56, 65)
m₄ = 1-Äthinylcyclohexano-(1) (56)
m₁ und m₂ (Ethinamate) entsprechen m₂ bzw. m₃ (Äthinylcyclohexylallophanat) (54) (s. PC, Äthinylcyclohexylallophanat und DC, Ethinamate!)

Extrakt	Papier	Laufm.	Rf.	Spütreagenz	UV.	Lit.
ÄTHYLPHENYLHYDANTOIN (HYD)						
-	-	-	-	-	-	-
in vivo						
U	2	8 12	90 90	)31 Ø:10/22/35)36/47	) 1)	65
MEPHENYTOINE (MEP)						
in vitro						
	2	8 12	88 98	)31 Ø:10/22/35)36/47	) 1)	65
in vivo						
-	-	-	-	-	-	-

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen liegen in vivo vor (s. DC, Mephenytoine!)

PHENYTOIN (PHE)				in vitro
16	48	20	22/28/31	- 69
19	6	79	31	- 33
				in vivo
U	2	5	31	- 45
U	8	39	31/32	3 52
U	(2	8	78	)
	(12	90	22/35/36	)
	(8	62	470 ϕ :10/	) 1 65
m ₁	(12	80	22/31/35/36	)
O	16	11	65	3 12
	27	80		)
18	30	20	-	) 2 43
	35	56		)

m₁ = Hydroxydiphenylhydantoin (65)

DIHYPRYLON (DIH)				in vitro
11	37	50	1b/8Br	
			ϕ :13/15/18/31/	- 15
			35/41/46	
				in vivo
-	-	-	-	-

In vivo ist Dihyprylon dünnstichchromatographisch untersucht /s. DC. Dihyprylon

Extrakt	Papier	Laufn.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
GLUTETHIMIDE (GLU)						
11		37	73	15rB/31		
				Ø:1/8/13/18/35/ 41/46	-	15
3		4	86	31	-	50
2		8	92	)31/35r/47r	) 1	65
		12	94	)Ø:10/22/36	)	
16		5	89	31	-	69
12		38	-	3/26r	-	39
12		34	75	)		
-		40	62	)		
10		37	73	)3Gx/4G/5b/8B/11rB/		
3		8	92	)17G/24v/31gs/35G/		
3		12	94	)36mod. B/39G		
9		)	73	)Ø:6/12/18/30/37/41	-	37
12		)	67	)		
13		)	83	)		
20		) ³⁴	60	)		
21		)	75	)		
22		)	54	)		
2		5	96	31	-	46

5	7	94	31	-	36
4	22	86	)2/14/23/(27)/	)	
	25	87	)32)/33/(35)/42/	) ϕ :3	27
			)45r ϕ :7/9/22/		
			)25/44		
	15	93	34	-	6
2	17	96	)31gs	-	34
	19	98	)		
	8	68	)31/35G	1	65
m_1	12	76	) ϕ : 10/22/36/47		

				in vivo	
U	24	89	-		
U	21	88	31/44		
U	)	90-94	)		
	)	28	)	-	74
m_1	)26	40	)31		
m_2	)	69	)		
m_3	)	83	)		
m_4	)				
	5	96	)31	-	45
U		30	)		
	39	73	31/32	3	52

Extrakt	Papier	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
Fortsetzung:						
GLUTETHIMIDE (GLU)						
U	16	33	83 67	) ¹⁶)	-	67
m ₁						
B/M/U	3	41	75	31	-	35
B	6	21	-	31	-	73
m ₁₋₄	-	-	-	-	-	-
U	16	5	96-97	31	-	2
U	15	16	55 82	31 -	) 1)	32
m ₁	-	5	30	31	-	46
U	4	21	88	31/φ:7	φ:3	27
U			90-94	)		
(m ₁)			28	)		
m ₂	4	26	40	) ³¹	-	27
(m ₃)			69	)		
m ₄			77	)		
(Ga)			92	)		
m ₁	-	15	20	) ³⁴	-	6
m ₂			37	)		
U			48	)		
m ₃						

U	-	10	87	38	-	62
		27	90		)	
18		30	82	-	) 1	43
		35	95		)	
16		13	85-90	350	-	64

Es werden 4 Metaboliten angegeben (27, 73, 74). Sie sollen als Flecke eine charakteristische Pilzform ergeben, m₁ und m₃ erscheinen nicht regelmäßig (27)
m₁ = Phenylglutarimid (65, 67) (s. DC, Glutethimide!)

METHYPRYLON (MET)

in vitro

11	37	59	1b/8hr→ v	-	15
			φ:13/15/18/31/ 35/41/46		
2	8	90	8hr→ v	-	14
	8	90	)35G/φ:10/	)	
	12	88	)22/31/36/47	)	
m ₁	8	30	)10G/22G/31/	)	
	12	88	)47G/φ:35/36	)	
	8	85	)10G/22G/(47G)/	) 1	65
m ₂	12	85	)φ:31/35/36	)	
	8	93	)22G/(47G)/	)	
m ₃	12	93	)φ:10/31/35/36	)	

Extrakt	Papier	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
Fortsetzung:						
		METHYPRYLON (MET)				
	12	38	-	3/26r	-	39
	12	34	44	)		
	-	40	31	)		
	10	37	59	)3G→ v/5b/8r/		
	3	8	90	)11b)/17G/24B/		
	3	12	88	)39wG		
	9	)	42	)Ø:4/6/12/18/30/		37
	12	)	44	)31/35/36/37/41	-	
	13	)34	50	)		
	20	)	35	)		
	21	)	43	)		
	22	)	31	)		
	4	22	79	)2/7/(9)/(22)/	) 5wb	
		25	83	)27)Ø:14/23/25/	)Ø:3	27
				)31/32/33/35/42/	)	
				44/45		
m ₁			50	-	5w→ b	
m ₂			72	)	)	
m ₃	16	32	11	)	)	
m ₄			34	)21hb- x	) -	7
m ₅			63	)	)	
			54	)	)	

m ₁ m ₂ m ₃ m ₄	1	32	10 60 50 74	-	3xb 3dbx 3hb 3Gx	57
U		24	81	-		
U	6	) ₂₁)	65 42	7/31 -	-	74
U			88-90	7	-	
(m ₁)			22	)	-	
m ₂	6	26	50	)31	1	74
m ₃			60	)	-	
m ₄			75	)	-	
U	2	5	30-34 17-22	) ₃₁)	-	45
B	6	21	-	7	-	73
U	15	16	85 76 37	31 31 -	1 1 1	32
U	4	21	42 75	7 (31 d (Startfleck) (((42) ϕ :7/31	- 3bw	27

Extrakt	Papier	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
Fortsetzung:						
METHYPRYLON (MET)						
U			88-90	7 ϕ :31	ϕ :3	
(m ₁)			22	31	-	
m ₂	4	26	50	31	3hb	
(m ₃)			60	31	-	27
m ₄			75	31/42 ϕ :9	3hb	
U			50	-	5w $\rightarrow$ b	
m ₁			72	)	)	
m ₂	16	32	11	)	)	
m ₃			34	)21hb $\rightarrow$ x	-	7
m ₄			63	)	)	
m ₅			54	)	)	
U			20	)		
m ₁			31	)31	-	27
m ₂	4	23	47	)		
m ₃						
U						
m ₁	-	31	)63		5	59
			)84		4	

außerdem nicht identifizierte Rf-Werte bei:
35, 26, 19, 11

U	-	10	90	38	62
U Ø			-		-
(m ₁)			10		3hbx
(m ₂)	1	32	32	-	3b
(m ₃)			53		3hb
m ₄			73		3Gx

Folgende Metaboliten ließen sich nachweisen und wurden in ihrer Struktur geklärt als

1. 2. 4-Dioxo-3. 3-diäthyl-5-methyltetrahydropyridin
= m₃ (65), m₁ (27), m₁ (32), m₁ (7), m₄ (57), m₄ (74)
2. 2-Dioxo-3. 3-diäthyl-5-hydroxymethyltetrahydropyridin
= m₁ (57), m₂ (32), m₂ (7), m₂ (27)
3. 4. 6-Dioxo-5. 5-diäthyl-tetrahydronicotinaldehyd +
= m₂ (57), m₄ (7)
4. 4. 6-Dioxo-5. 5-diäthyl-tetrahydronicotinsäure
= m₁ (65), m₃ (27), m₃ (57), m₃ (7)
5. 2. 4-Dioxo-3. 3-diäthyl-tetrahydropyridin
= m₂ (65), m₅ (7)

Über ein regelmäßiges Erscheinen der unveränderten Substanz liegen unterschiedliche Ergebnisse vor.

+ Dieser Metabolit wird auf Grund von in vitro Versuchen gefordert, soll wegen seiner leichten Oxydierbarkeit im Urin in vivo aber nicht nachzuweisen sein.

Extrakt	Papier	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
PYRITHYLDIONE (PYR)						
11		37	56	1b/15bx Ø:8/13/18/31/ 35/41/46	-	15
2		9 1	82-87 69-75	-	) ₃)	18
2		5	96	31	-	46
16		48	Front	22/28/31	7	69
12		38	-	3/26r	-	39
12		34	45	)3G→ B/5b/		
-		40	16	)6r/8rB/		
10		37	56	)11b/17B		
3		8	85	)24v/36mod. - B/		
3		12	90	)39B)		
9		)	47	)Ø:4/12/18/	-	37
12		)	45	)30/31/35		
13		) ₃₄	48	)37/41		
20		)	38	)		
21		)	49	)		
22		)	36	)		

4	22 25	44 50	)2/14/22/23/(27)/ (42)/45r Ø:7/9/25/ 31/32/33/35/44	) ₃)	27
16	24 46 36 14	62 71 75 93	-	)) ₁))	16
23	42 43	27 07	-	) ₃)	80

				in vivo	
U	6	24 21	55 43	- 44	74
U	6	26	78-80 15 48 72	)) ₃₁)	74
U	2	5	96	31	45
U	2	8 12	85 90	) _{22G/31s})Ø:10/35/36/47	65

Extrakt	Papier	Laufn.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
Fortsetzung: PYRITHYLDIONE (PYR)						
U		21	40	(31 (Startfleck) (ϕ :7	3	
U		)	80	-	3	
m ₁	4	26	15	)	-	27
m ₂	)	)	49	23/31	3b	
m ₃	)	)	71	)		
B	6	21	-	-	1	
m ₁₋₃	-	-	-	-	-	73
U	16	5	93-96	31	-	2
U			80	)	)	
	15	16		)	) ₁	32
m ₁			64	}	)	

Es werden 3 Metaboliten erwähnt. Ihre chemische Struktur ist unbekannt.

THALIDOMIDE (THA)						in vitro
2	4	83	11	-	5	
-	-	-	-	-	-	in vivo
-	-	-	-	-	-	-

2. Diskussion der Identifizierungsmöglichkeiten

a) Rf-Werte, Metaboliten und Laufmittel (Tabelle C)

Die Rf-Werte ($Rf \times 100$) der Hypnotika in den einzelnen Laufmitteln sind nach abnehmender Größe geordnet. Wurden von einer Substanz unterschiedliche Rf-Werte angegeben, findet der höchste Wert Berücksichtigung; die anderen Angaben sind in Klammern gesetzt. Metabolite werden unter der Grundsubstanz aufgeführt.

Die angegebenen Papiersorten sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Bei Benutzung verschiedener Papiere ergeben sich selbstverständlich unterschiedliche Rf-Werte. Wenn aber zwei Papiersorten durch einen Schrägstrich getrennt sind, bedeutet dies, daß sie gleiche Saughöhen aufweisen und somit verglichen werden können. ^{†)}

Trennt ein Laufmittel einzelne Hypnotika schlecht auf, wird kurz darauf hingewiesen.

Die linke Spalte enthält die Ergebnisse der in vitro-, die rechte die der in vivo-Versuche.

1. Methanol

Papier: 2

PYR 69-75

2. Methanol/Wasser (1/1)

Papier: 2

ETH 85

3. Methanol/Salzsäure (n/10) (1/1)

Papier: 2

ETH 75

4. Dimethylformamid/Methanol/Wasser (25/70/5)

Papier: 2

THA 83

^{†)} vgl. Anmerkung S.12!

Papier: 3

GLU 86 -----

5. Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (45/45/10)
"DEININGER"

Papier: 2

GLU 96

PYR 96

Papier: 16

GLU 89

Papier: -

BUT 90

Papier: 2

GLU 96

m₁ 30

PYR 96

ETH 94

m₁ 80-81

PHE 80

MET 30-34

m₁ 17-22

Papier: 16

GLU 96-97

PYR 93-96

Papier: -

BUT 85

m₁ 70

m₂ 40

In vitro ergeben GLU/PYR denselben Rf-Wert. In vitro lassen sich GLU/PYR/ETH nur durch die Metabolitenflecke unterscheiden.

6. Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (51/36/13)

Papier: 19

PHE 79 -----

7. Dioxan/Xylol/Toluol/Isopropanol/Ammoniak (25%)
(1/2/1/4/2)

Papier: 5

GLU 94 -----

8. n-Butanol/Ammoniak (5n) (1/1) "ALGERI-WALKER"

Papier: 2/3

GLU	92
QUA	90
BRO	90
CAR	90
MET	90
MEP	88
ETH	85
PYR	85
ACE	82

Papier: 2

QUA	90
HYD	90
ETH	85
m ₁	74
PYR	85
PHE	78
m ₁	62
GLU m ₁	68
MET m ₁	30
m ₂	85
m ₃	93
CAR m ₁	10

Papier: 16

ETH	86
m ₁	02
m ₂	72

In vitro lassen sich GLU/QUA/BRO/CAR/MET, QUA/BRO/CAR/MET/MEP und ETH/PYR nicht genügend auftrennen. In vivo muß die Identifizierung mit Hilfe der Metaboliten vorgenommen werden. QUA/HYD lassen sich nicht auftrennen.

9. n-Butanol/Ammoniak (254) /Wasser (20/1/7)

Papier: 2

PYR	82-87
-----	-------

10. n-Butanol/Ammoniak (3%)

Papier: -

MET	90
GLU	87
ETH	80

Da es sich um die Arbeit eines Autors handelt, kann die Verwendung des gleichen Papiers angenommen werden.

11. Butanol/Ammoniak/Wasser (100/66/33)

Papier: 16

PHE 65

12. n-Butanol/Ameisensäure (15%)/Wasser (12/1/7)
"JATZKEWITZ"

Papier: 2/3

Papier: 2

MEP 98
GLU 94
QUA 90
CAR 90
PYR 90
ACE 88
MET 88
BRO 87
ETH 85

CAR_{m1} 90
HYD 90
PHE 90
m₁ 80
PYR 90
MET_{m1} 88
m₂ 85
m₃ 93
ETH 85
m₁ 85
GLU 76

In vitro kann keine sichere Auftrennung bei QUA/CAR/PYR, ACE/MET/BRO, BRO/ETH und zwischen der ersten und zweiten und der zweiten und dritten Gruppe vorgenommen werden. In vivo liegen für CAR/HYD/PYR keine sicheren Trennmöglichkeiten vor.

13. Butanol/Ameisensäure/Wasser (11/1/7)

Papier: 16

GLU 85-90

CAR 88

BRO 86

GLU/CAR/BRO liegen nicht ausreichend weit auseinander.

14. Butanol/Essigsäure

Papier: 16

PYR 93

15. n-Butanol/Eisessig/Wasser (40/10/50)

Papier: -

GLU 93

Papier: -

GLU (92)

m₁ 20

m₂ 37

m₃ 48

16. n-Butanol/Methanol/Ammoniak (25%) (120/40/40)

Papier: 15

MET $\emptyset$

m₁ 85

m₂ 76

(m₃) 37

ETH m₁ 81

m₂ 64

PYR 80

m₁ 64

CAR 77

m₁ 67

m₂ 56

m₃ 38

m₄ 23

GLU 55

m₁ 82

Die Unterscheidung von ETH/PYR ist schwierig.

17. n-Butanol/Isoamylalkohol (50/50) und Ammoniak (konz.)

Papier: 2

GLU 96

18. Cyclohexanol/n-Butanol

Papier: 8

ALL 96

m₁ 82

ETH 94

m₁ 82

ALL/ETH lassen sich kaum unterscheiden.

19. n-Butanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (120/55/25)
"SEIFERT"

Papier: 2

GLU 98

20. Isoamylalkohol/Ammoniak (wässrig)

Papier: 16

APR 90

CAR 90

BRO 85

APR/CAR ergeben denselben Rf-Wert.

21. Toluol/Ammoniak (10/1)

Papier: 4/6

GLU 88

CAR 78

ETH 75

MET 75 65

m₁ 42

PYR 43 40

22. Toluol/Eisessig (10/1)

Papier: 4

GLU 86

MET 79

ETH 76

PYR 44

23. Toluol/Eisessig (10/2)

Papier: 4

MET m₁ 20

m₂ 31

m₃ 47

24. Toluol/Eisessig/Wasser (10/4/5)

Papier: 16

PYR 62

Papier: 6

GLU 89

MET 81

PYR 55

25. Toluol/Eisessig/Wasser (10/4/2)

Papier: 4

GLU 87

MET 83

ETH 77

PYR 50

26. Toluol/Butanol/Eisessig/Wasser (9/2/4/5)

Papier: 4/6

GLU 90-94

m₁ 28 (28)

m₂ 40

m₃ 69 (69)

m₄ 83 77

MET 88-90

m₁ 22 (22)

m₂ 50

m₃ 60 (60)

m₄ 75

PYR 78-80

m₁ 15

m₂ 48 (49)

m₃ 72 71

ETH Ø

m₁ 04

m₂ 22

m₃ 28

m₄ 43

27. Diäthyläther

	Papier: 18	
-----	BRO	90
	GLU	90
-----	ACE	87
	CAR	87
	PHE	80

BRO/GLU und ACE/CAR lassen sich nicht differenzieren.

28. Äther/Pentan (3/1)

	Papier: 2	
-----	ETH m _{1a}	33
-----	1b	46
	m _{2a}	59
	2b	67

29. Äther/Pentan (1/3)

	Papier: 2	
	ETH m _{3a}	78
	3b	67

30. Di-n-butyläther

	Papier: 18	
-----	CAR	88
	BRO	84
	ACE	82
	GLU	82
-----	PHE	20

ACE/GLU weisen denselben Rf-Wert auf und lassen sich von BRO nicht sicher abtrennen.

31. Butyläther/Methylcellosolve/Butanol/Wasser (10/1/1/1)

	Papier: -	
-----	MET	63
-----	m ₁	84
-----	nicht differenzierte Flecken bei: 11, 19, 26, 35	

32. Dicutyläther/Isopropyläther/Methylcellosolve/
Essigsäure (5%) (10/1/1/1)

Papier: 1

MET	m ₁	10
	m ₂	60
	m ₃	50
	m ₄	74

Papier: 1

MET	Ø
m ₁	(10)
m ₂	(32)
m ₃	(53)
m ₄	73

Papier: 16

MET	50
m ₁	72
m ₂	11
m ₃	34
m ₄	63
m ₅	54
GLU	83
m ₁	67

33. Petroleum-Äther/Methanol

Papier: 15

GLU	83
m ₁	67

34. Petroläther/Dioxan (50/20)

Papier: 10

GLU	73
CAR	68
ETH	46
BRO	44
MET	42

Papier: 12

GLU	67
CAR	62
ETH	48
MET	44
BRO	20

Papier: 13

GLU	83
CAR	80
ETH	58
MET	50
BRO	47

Papier: 20

GLU	60
CAR	55
ETH	39
BRO	36
MET	35

Papier: 21

GLU	75
CAR	71
ETH	48
BRO	47
MET	43

Papier: 22

GLU	54
CAR	51
ETH	37
BRO	35
MET	31

Ähnliche Rf-Werte ergeben sich bei Papier 10 für ETH/BRO und BRO/MET, bei Papier 20 für BRO/MET, bei Papier 21 für ETH/BRO und bei Papier 22 für ETH/BRO.

35. Chloroform

Papier: 18

GLU	95
ACE	93
CAR	92
BRO	89
PHE	56

Papier: 17

CAR_{m1} 90
m₂ 72

GLU/ACE und ACE/CAR werden nicht ausreichend aufgetrennt.

36. Ameisensäure/Chloroform/Äthanol

Papier: 16

PYR 75

37. Methylal/Dekalin/Chloroform/n-Hexan (11/3/3/8)

Papier: 1

PYR 56

Papier: 10

GLU 73

CAR 67

ETH 61

MET 59

PYR 56

BRO 53

Papier: 11

GLU 73

CAR 67

ETH 61

MET 59

BRO 53

DIH 50

ETH/MET liegen bei Papier 10 und 11 nahe beieinander.

38. B50/D20 - Benzin/1.4-Dioxan (5/2)

Keine Rf-Wertangaben in vitro für BRO, CAR, ETH, GLU, MET und PYR (Papier 12).

39. Ligroin ("RIEDEL DE HAEN")/Dioxan (37Vol%, "MERCK")

Papier: 8

GLU 73

-----	ETH	72	62
	m ₁	12	
	ALL	65	52
	m ₁	07	
-----	PHE	49	
	Papier: 7		
-----	ETH	-	
	m ₁₋₅	-	

40. Benzin/Butanol (wassergesättigt) (100/3)

Papier: -	-----
CAR	63
GLU	62
ETH	45
MET	31
BRO	21
PYR	16

Da es sich um die Ergebnisse einer Arbeit handelt, kann angenommen werden, daß für die Untersuchung dieselbe Papiersorte benutzt wurde. Bei CAR/GLU ergeben sich Differenzierungsschwierigkeiten.

41. Dimethylformamid/Benzin-Dioxan

-----	Papier: 3
	GLU 75

42. Dimethylformamid/Dioxan-Ligroin-(2/5)

Papier: 22	
QUA	50
GLU	40
PYR	27

43. Dimethylformamid/Cyclohexan

Papier: 23	
QUA	43
GLU	11
PYR	0)

44. Cyclohexan

Papier: 14

PEN 45

45. Benzol

Papier: 17

CAR 80

m₁ 58

m₂ 24

46. Benzol/Essigsäure/Wasser

Papier: 16

PYR 71

47. Äthylendichlorid

Papier: 17

CAR m₁ 80

m₂ 60

48. Äthylendichlorid/Natronlauge (0,5m)

Papier: 16

PYR Front

PHE 20

49. Methylketon/alkohol/Wasser (70/15/15)

Papier: 16

BRO Front

CAR Front

BRO/CAR laufen mit der Lösungsmittelfront.

Diskussion

Um unbekannte Hypnotika nachzuweisen, kann es manchmal von Nutzen sein, die Papier- oder Dünnschichtchromatographie mit anderen Nachweismethoden zu kombinieren.

MOHRSCHULZ (46) benutzt die Zwicker-Reaktion in Verbindung mit der Papierchromatographie als Vorprobe zur Identifizierung von Hypnotika und deren Unterscheidung in Barbiturate und "Nichtbarbiturate".

Bei einer positiven Zwicker-Reaktion und R_f -Werten im Bereich von 0,90-0,40 (beim Laufmittel nach "DEININGER": Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (45/45/10)) sollen Barbiturate vorliegen. Phenytoin hat allerdings einen R_f -Wert von 0,80, der zu Verwechslungen Anlaß geben könnte. Bei positiver Zwicker-Reaktion und R_f -Werten 0,90 sollen Glutethimide und Pyrithyldion, bei negativer Reaktion und R_f 0,90 Ethinamate wahrscheinlich sein. Bei Methypylon sollen die Zwicker-Reaktion und der sonst positive Nachweis mit Quecksilber-(I)-nitrat negativ ausfallen. Somit wäre für vier der wichtigsten "Nichtbarbiturate" eine erste grobe Unterscheidung von den Barbituraten gegeben.

Es erscheint als das Einfachste, eine Substanz auf Grund ihres R_f -Wertes zu bestimmen. Bei dessen Inkonzanz und Schwankungsbreite ist das aber ohne weitere Sicherung nicht möglich. Setzt man gleiche Beschaffenheit des Papiers voraus, so werden trotzdem noch viele Faktoren, die im Einzelfalle oft nicht zu klären oder zu berücksichtigen sind, die Steighöhe der Substanz beeinflussen. Dazu zählen z.B. folgende:

- α) Temperatur und Luftfeuchtigkeit sind nicht immer konstant zu halten. Die Abhängigkeit des R_f -Wertes davon ist bekannt, verbindliche Werte, die jederzeit das erhaltene Ergebnis berichtigen ließen, liegen jedoch nicht vor.
- β) Auch auf die Zusammensetzung des Laufmittels und die Dampfsättigung der Kammer muß geachtet werden. Hierfür wird die Kammer mit Filterpapier ausgekleidet, das vorher mit dem Lösungsmittel getränkt wurde. Zur Dampfsättigung ist allerdings eine gewisse Zeit nötig. HILF, LIGHT-BURN u. a. (30) geben interessante R_f -Wertänderungen in Abhängigkeit von der Sättigungsdauer an. Bei Barbituraten erfolgt eine Zunahme nach 4 Tagen ziemlich konstant um 0,11 und nach 6 Tagen nicht mehr so gleichmäßig um 0,14-0,23 gegenüber dem Ausgangswert.

In der Literatur finden sich in der Regel keine Angaben über die Zeit, die zur Sättigung der Kammer verwandt wurde. Ein Teil der differierenden Rf-Wertangaben für die gleiche Substanz unter sonst gleichen Bedingungen lassen sich wahrscheinlich auf eine ungenügende Beachtung dieser Tatsachen zurückführen.

- γ) Lösungsmittel mit einem leicht flüchtigen Anteil unterliegen einer "Altersneigung", d.h. nach einer gewissen Zeit stehen die Anteile in einem anderen prozentualen Verhältnis zueinander. Deshalb muß man bei anfallenden toxikologischen Untersuchungen das Gemisch meist neu ansetzen. Bis aber eine ausreichende Kammerdampfsättigung erreicht ist, kann u. U. kostbare Zeit verlorengegangen sein.

GOEBEL (27) berichtet, daß er mit 3 Laufmitteln:

- 1) Butanol/Amylalkohol (1/1), Ammoniak gesättigt,
- 2) Butanol/Ammoniak (25%)/Chloroform (120/25/35) und
- 3) Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (45/45/10)

trotz exakt eingehaltenen äußeren Bedingungen bei Reinsubstanzen immerhin Streubreiten von 0,06 (1), 0,06 (2) und 0,09 (3) erhalten habe.

Um die Schwankungen des Rf-Wertes bei in vivo-Versuchen festzustellen, werden die Reinsubstanzen der zu erwartenden Mittel mitchromatographiert. Sie sind denselben äußeren Bedingungen unterworfen und können außerdem in verschiedener Menge aufgetragen werden. Dadurch lassen sich Änderungen der Laufhöhe, die durch zu kleine oder zu große Substanzmengen begründet sind, berücksichtigen.

NEIL (48), BURMESTER (9) und UHLMANN (70) benutzen zur zusätzlichen Identifizierung Standardsubstanzen, die bei jedem Versuch mitlaufen und zu denen sie die anderen Substanzen in Beziehung setzen.

$$R_{St} = \frac{\text{Rf-Wert der zu untersuchenden Substanz}}{\text{Rf-Wert der Standardsubstanz (St)}}$$

Für die Hypnotika wählt BURMESTER (9) Veronal als Standardsubstanz, UHLMANN (70) hingegen benutzt Rhodamin B oder alkoholgesättigtes Sudan III.

Bei in vivo Versuchen sind oft zusätzlich Metaboliten neben unverändert ausgeschiedener Substanz zu finden. Sie können eine sichere Bestimmung wesentlich erleichtern. Das "Metabolitenbild" stellt sogar die einzige Identifizie-

rungsmöglichkeit dar, wenn das Mittel bei Körperpassage völlig abgebaut wurde. Es sei in diesem Zusammenhang auf die Arbeiten von SCHMIDT (81), FREY, SUDENDEY u. a. (23), PREUSS, KOPP u. a. (52, 53, 54, 55) und PREUSS und MAYER (56) verwiesen. Wichtig für das Auftreten der Metaboliten und ihr quantitatives Vorliegen sind applizierte Mengen des Hypnotikums, Stoffwechsellaage des Patienten und Zeitpunkt der Ausscheidung. Bei einem Suizidfall sind diese Kriterien aber oft nicht feststellbar und können die Auswertung wesentlich erschweren.

In der schon erwähnten Arbeit von SCHMIDT (81) wird vorgeschlagen, bei unbekannter Anamnese die Metaboliten hinzuzuziehen und außerdem ein zweites Laufmittel zu verwenden, um die Rf-Werte zu sichern.

An dieser Stelle sei vermerkt, daß die Angaben über die Zahl der nachweisbaren Metaboliten bei den einzelnen Autoren recht unterschiedlich sind. Es wurden auch in der Dünnschichtchromatographie Metaboliten beschrieben, die in der Papierchromatographie nicht auftreten. Es handelt sich im einzelnen um:

Methylpentynol: 4 Metabolite

Metaqualonhydrochlorid: 4 Metabolite

Bromisoval: 6 Metabolite

Die chemischen Strukturen sind unbekannt.

Da es sich um die Ergebnisse einer Arbeit handelt, muß man annehmen, daß diese Metaboliten durch die spezielle Arbeitsweise des Autors gefunden wurden. Es ist nicht anzunehmen, daß mit der Dünnschichtchromatographie generell die Substanzen besser zu erfassen sind.

Von den zahlreichen in der Literatur beschriebenen und hier zusammengestellten Lösungsmitteln können im Hinblick auf ihr Auftrennungsvermögen ein Großteil nicht beurteilt werden, da mit ihnen nur ein oder zwei Substanzen untersucht sind oder keine Rf-Werte vorliegen. Es sind dies die Laufmittel:

1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 11, 14, 15, 17, 18, 19, 23, 28, 29, 31, 32, 33,
36, 38, 41, 44, 45, 46, 47, 48, 49.

Über andere Lösungsmittel läßt sich aus den gleichen Gründen entweder bei in vivo oder bei in vitro-Versuchen nichts Sicheres aussagen:

in vitro: 5, 10, 13, 16, 20, 21, 24, 26, 27, 30, 35, 39;

in vivo: 22, 25, 34, 37, 40, 42.

Die verbleibenden Lösungsmittel, in denen mindestens 3 Substanzen untersucht wurden, sind nach in vitro und in vivo-Ergebnissen unterschieden. Es ergibt sich hierbei folgendes Bild:

α) in vitro-Versuche

Eine schlechte Auftrennung findet sich bei den in der Papierchromatographie relativ häufig gebrauchten Laufmitteln 8 und 12.

Laufmittel 42 und 43 liefern etwas bessere Ergebnisse.

Die Laufmittel 22, 25, 34, 37 und 40 scheinen gut verwendbar zu sein.

Ein besonders empfehlenswertes Gemisch liegt nicht vor.

β) in vivo-Versuche

Schlechte Trennung mit den Laufmitteln 12, 13 und 20.

Eine bessere Trennung läßt sich mit den Lösungsmitteln 8 und 16 erreichen. Bei Nr. 5, 21, 27, 30 und 35 könnte eventuell die zusätzliche Berücksichtigung der Metaboliten die sonst befriedigende Unterscheidung beeinträchtigen.

Eine gute Trennung liegt mit Laufmittel 26 vor. Das gleiche gilt für Nr. 10, 24 und 39. Hier sind allerdings nicht genügend Substanzen und Metaboliten untersucht.

Die Einteilung der Laufmittel in solche mit guter oder schlechter Trennfähigkeit bedeutet keine absolute Wertung. Beispielsweise kann ein Gemisch, das in vitro schlecht auftrennt, die Substanzen in vivo ausreichend differenzieren, weil die hinzukommenden Metaboliten günstig laufen. Auch der umgekehrte Fall ist denkbar, daß in vivo hinzukommende Metaboliten im Bereich der unveränderten Substanz liegen und zu Verwechslungen Anlaß geben. Ein solches Mittel ist dann für in vivo-Versuche ungeeignet.

Zum anderen kann hier nur die Trennfähigkeit der "Nichtbarbiturate" untereinander beurteilt werden. Häufig wird es aber nötig sein, ein barbitursäure-freies Hypnotikum von einem barbitursäurehaltigen oder den Mitteln anderer Stoffklassen zu unterscheiden. Man muß an die Auftrennbarkeit eines Lösungsmittels dann ganz andere Anforderungen stellen.

Folglich richtet sich die Wahl eines Laufmittels nach den zu untersuchenden und den abzugrenzenden Substanzen (PROBST (58)). Ein universell brauchbares Lösungsmittel für Hypnotika läßt sich somit nicht angeben.

b) Nachweis mit Sprühreagenzien (Tabelle D) und im UV-Licht
(Tabelle E)

In den beiden folgenden Tabellen über Nachweisreaktionen mit Sprühreagenzien und im UV-Licht können der positive [+] und der schwach positive oder unbeständige [(+)] Ausfall einer Reaktion abgelesen werden.

Wenn eine Farbe bekannt war, ist diese statt des Kreuzes vermerkt.

Stimmten die Angaben der einzelnen Autoren nicht überein, wurden jeweils sämtliche Ergebnisse in die Tabellen mit aufgenommen. Wo ausdrücklich beschrieben war, daß keine Reaktion eintrat, ist es berücksichtigt ($\emptyset$). Öfters war aus den Literaturangaben aber nicht eindeutig ersichtlich, ob ein Reagenz zu keiner Reaktion führte oder ob es überhaupt nicht erprobt wurde.

Von den Metaboliten können nur diejenigen verglichen werden, deren chemische Struktur bekannt ist.

Tabelle D: Sprühreagenzien

[illegible]

	10	11	12	13	14	15	16	17	18
BUT									
PEN									
QUA									
ACE	∅								
ALL									
m ₁									
m ₂									
APR									
BRO	∅	∅	r	r		∅		G	∅
CAR	∅	∅	r	r		∅		G	∅
m ₁	∅								
m ₂	∅								
m ₃									
ETH	∅	(r)	(G)	∅	+	∅		B	∅
m ₁	9b								
m ₂									
HYD	∅								
MEP	∅								
PHE	∅								
m ₁	∅								
DIH				∅		∅			∅
GLU	∅	rB	∅	∅	+	rB	+	G	∅
m ₁	∅						+		
MET	∅	(b)	∅	∅	∅	∅		G	∅
m ₁	∅								
m ₂									
m ₃									
m ₄	G								
m ₅	G								
PYR	∅	b	∅	∅	+	bx		B	∅
THA		+							

	19	20	21	22	23	24	25	26	27
BUT				$\frac{h}{R}$					
PEN		hG-B		$\frac{h}{R}$					
QUA									
ACE				$\emptyset$					
ALL									
m ₁									
m ₂									
APR									
BRO				$\emptyset /$		v		r	
CAR				$\emptyset$		B		r	
m ₁				$\emptyset$					
m ₂									
m ₃									
ETH				G/(+)	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	r	+/(+)
m ₁									
m ₂									
HYD				$\emptyset$					
MEP				$\emptyset$					
PHE				+/ $\emptyset$					
m ₁				$\emptyset$					
DIH									
GLU				$\emptyset$	+	v	$\emptyset$	r	(+)
m ₁									
MET	+			(+)/ $\emptyset$	$\emptyset$	B	$\emptyset$	r	(+)
m ₁		hb-x		G					
m ₂		hb-x							
m ₃		hb-x							
m ₄		hb-x		G					
m ₅		hb-x		G					
PYR				G/+	+	v	$\emptyset$	r	(+)

	46	47	48
BUT			
PEN			
QUA		∅	
ACE		∅	
ALL			
m ₁			
m ₂			
APR			
BRO	∅	∅	Rv
CAR		∅	Rv
m ₁		∅	
m ₂			
m ₃			
ETH	$\frac{r}{v} \frac{r}{bv} \text{ hr}$	G	
m ₁			
m ₂			
HYD		∅	
MEP		∅	
PHE		v	
m ₁		o	
DIH	∅		
GLU	∅	r/∅	
m ₁		∅	
MET	∅	∅	
m ₁		(+)	
m ₂			
m ₃			
m ₄		G	
m ₅		(G)	
PYR	∅	∅	
THA			

Tabelle E: UV-Licht

	1	2	3	4	5	6	7
BUT							
PEN							
QUA							
ACE	+	+					
ALL							
m ₁							
m ₂							
APR							
BRO	+	+					
CAR	+	+					
m ₁	+						
m ₂	+						
m ₃	+						
ETH	Ø		Ø				
m ₁						+	
m ₂							
HYD	+						
MEP	+						
PHE	+	+	+				
m ₁	+						
DIH							
GLU	+		+ / Ø				
m ₁	+						
MET	+		Ø		wb		
m ₁	+		Gx				
m ₂	+		bhx/hb				
m ₃			b				
m ₄	+		hb				
m ₅	+						
PYR	+		b / +				+
THA							

Diskussion

Die Verwendung eines Sprühreagenzes oder das Betrachten des Papiers unter UV-Licht hat zunächst den Zweck, die Lage des Fleckens festzustellen und ihn zu markieren.

Darüber hinaus lassen sich aber auch einzelne Stoffklassen durch verschiedenen Ausfall der gleichen Reaktion unterscheiden. Innerhalb einer Arzneimittelgruppe kann bei gleichen oder ähnlichen R_f -Werten der Substanzen mit Hilfe der Nachweisreaktionen eine Klärung herbeigeführt werden.

Wenn unbekannte Hypnotika zu bestimmen sind, soll nach einem Vorschlag von KLÖCKING (39) erst einmal die Gruppenzugehörigkeit allein mit Sprühreagenzien geprüft werden:

Thiobarbitursäurederivate (TBSD) ergeben mit Kupfersulfat/Diäthylamin eine sicher positive Reaktion.

Barbitursäurederivate (BSD) färben sich in einer Menge über 50 γ schwach grün, verblassen aber bereits nach kurzer Zeit. Barbitursäurefreie Derivate (BSFD) sind bis zu 100 γ nicht zu erfassen. Ein unspezifischer Nachweis ergibt sich außerdem nur noch für Salicylsäure, Theobromin und Theophyllin.

TBSD ergeben mit Quecksilber-(I)-nitrat/Salpetersäure (1/1) eine graue Färbung, BSD bleiben bis 100 γ negativ, von den BSFD lassen sich Äthinylcyclohexylallophanat und Ethinamate nachweisen.

Mit der modifizierten Murexidreaktion reagieren TBSD, BSD und als unspezifische Substanz nur Primidone.

BSFD sind nicht zu erfassen.

Da TBSD, BSD und BSFD unspezifisch mit Chlor/Kaliumjodid-Benzidin und außerdem mit Joddampf reagieren, können mit diesen Nachweisen das Vorliegen von BSFD wahrscheinlich gemacht werden, wenn TBSD und BSD durch obige Reaktionen ausgeschlossen worden sind.

Man muß bei den Farbreaktionen aber immer bedenken, daß die Substanzmenge, die in vivo bei unbekannten Mitteln ja nicht vorher bekannt ist, einen wesentlichen Einfluß auf den Ausfall der Reaktion und die Farbqualität haben kann (HJELT, LEPPÄNEN u. a. (31)).

Zusätzlich ist zu berücksichtigen, daß harnpflichtige Stoffe ebenfalls mit den Sprühreagenzien sichtbar werden bzw. im UV-Licht aufleuchten können.

Geringe Farbnuanzierungen und individuelle Farbempfindungen erschweren einen objektiven Vergleich. So werden z.B. bei Quecksilber-(I)-nitrat (Reagenz 31) als Farben angegeben: schwarz, grau, graublau, braun und braungelb. Dieses Reagenz, das bei sehr vielen Nichtbarbituraten und Barbituraten eine positive Reaktion ergibt und zur schnellen Auffindung der Fleckenhöhe nützlich ist, kann dagegen zur Unterscheidung nur schlecht herangezogen werden.

Von den 17 untersuchten Substanzen sind bei 6 in ausreichendem Umfang Reaktionen mit Sprühreagenzien bekannt:

GLU	:	40
MET	:	39
ETH	:	39
PYR	:	38
BRO	:	27
CAR	:	27

Bei den übrigen Pharmaka liegen Ergebnisse in folgender Zahl vor:

DIH	:	9	ALL	:	3
ACE	:	8	BUT	:	2
PHE	:	8	PEN	:	1
HYD	:	5	APR	:	1
MEP	:	5	THA	:	1
QUA	:	4			

Am Beispiel des Glutethimides und des Methypylons soll dargelegt werden, mit welchen Sprühreagenzien Untersuchungen vorliegen, die zur Differenzierung dieser beiden Substanzen untereinander dienen:

- α) Bewertung unmöglich, da keine oder nur eine Substanz untersucht sind:
16, 19, 20, 21, 28, 29, 34, 40, 43, 48.
- β) Widerspruchsvolle Angaben verschiedener Autoren, die ebenfalls keine Beurteilung zulassen:
8, 22, 31, 35, 44, 47.
- γ) Beide Mittel ergeben die gleiche Reaktion:
2, 5, 6, 10, 12, 13, 17, 18, 25, 26, 27, 30, 36,
37, 38, 41, 46.

δ) Unterschiedlicher Reaktionsausfall mit nur geringer Farbverschiedenheit:
3, 9, 39.

ε) Unterscheidung möglich:

1, 4, 7, 11, 14, 15, 23, 24, 32, 33, 42, 45.

Die viel untersuchten Substanzen können in den meisten Fällen durch die Sprühreagenzien untereinander abgegrenzt werden. Schwierig wird es aber schon, wenn noch ein Mittel der anderen Gruppe zur Diskussion steht oder wenn diese Pharmaka voneinander getrennt werden sollen.

Ein Nachweisreagenz, mit dem alle Mittel untersucht und ausreichend differenziert sind, gibt es nicht.

Die Wahl eines Sprühreagenzes muß sich ebenso wie die Wahl eines Laufmittels nach den zu untersuchenden und den abzugrenzenden Substanzen richten.

Das UV-Licht kann in der Papierchromatographie nur zur Lagebestimmung der Flecken, nicht aber zur Differenzierung benutzt werden, da einerseits zu wenig Resultate vorliegen, andererseits die Farben nicht charakteristisch genug sind.

III. DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN

Was im Vorausgegangenen über die Vor- und Nachteile der Papierchromatographie gesagt wurde, gilt im wesentlichen auch für die Dünnschichtchromatographie. Einige Unterschiede seien im folgenden hier noch angeführt:

- α) Die Laufzeiten sind in der Dünnschichtchromatographie beträchtlich kürzer als in der Papierchromatographie. In der toxikologischen Praxis kann es von großer Bedeutung sein, ob ein Ergebnis nach 30 bis 90 Minuten vorliegt oder erst nach 16 bis 18 Stunden.
- β) Die unempfindlichen Glasplatten erlauben es, aggressivere Sprühreagenzien anzuwenden, als dies auf Papier möglich ist.
- γ) Nachteilig wirkt sich aus, daß das Gießen der Platten sehr viel Sorgfalt und eine gewisse Übung erfordert. Geringe Unterschiede in der Schichtdicke der gesamten Platte oder eines Teiles verändern die Laufgeschwindigkeit des Lösungsmittels und führen zu nicht unerheblichen Rf-Wertschwankungen.

Um diesen Schwierigkeiten abzuhelpfen und gut reproduzierbare Trennungen

zu erhalten, empfiehlt die Industrie neuerdings Kunststoff-Folien und Tubes, die gebrauchsfertig geliefert werden können. Es wird allerdings als Nachteil der Folien vermerkt, daß wegen des verwendeten organischen Bindemittels die Verkohlungs-technik, d.h. Besprühen mit konzentrierter Schwefelsäure und anschließender Erhitzung auf 105°C nicht durchführbar ist.

- δ) Großen Einfluß auf die Steighöhe besitzt der Aktivierungsgrad des Gels. In der Regel muß eine Platte, die längere Zeit der Luftfeuchtigkeit ausgesetzt war, vor Gebrauch nochmals 10 Minuten im Trockenschrank aktiviert werden.
- ε) Zur Dokumentation wird ein Folienüberzug über die beschichtete Platte empfohlen. Somit kann die Glasplatte nicht mehr für weitere Versuche benutzt werden und auch eine Aufbewahrung erfordert relativ viel Platz. Dieser Nachteil entfällt bei Verwendung der erwähnten Kunststoff-Folien, die in gleicher Weise wie die Papierchromatographie bestens zur Dokumentation geeignet sind.

Die Zusammenstellung der Literaturangaben erfolgte nach dem gleichen Schema wie bei der Papierchromatographie. Die Aufschlüsselung ist nach den Tabellen 1-3 und 8-11 vorzunehmen.

UHLMANN (70) gibt u. a. Rf-Werte an, die sich auf mitchromatographierte Standardsubstanzen beziehen.

StA = Standardsubstanz A = alkoholisches Rhodamin B

StB = Standardsubstanz B = alkoholgesättigtes Sudan III.

Tabelle 8: Platten

1	=	Kieselgel	G	
2	=	Kieselgel	G	mit Eosinzusatz 1 : 1 000
3	=	Aluminiumoxyd	G	
4	=	Kieselgel	G	/ Aluminiumoxyd G (1 : 1)

Tabelle 9: Laufmittel

1	=	Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25) (45/45/10) "DEININGER"
2	=	Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (60/30/10)
3	=	Propanol/Ammoniumcarbonatlösung (1/2)
4	=	Cyclohexan/Isopropanol/Ammoniak (25%)
5	=	Chloroform/Isopropanol/Wasser (8/8/4)
6	=	Cyclohexan/Chloroform/Pyridin (20/60/5)
7	=	Chloroform/n-Butanol/Ammoniak (25%) (70/40/5)
8	=	Chloroform
9	=	Chloroform/Äther (85/15)
10	=	Chloroform/Aceton (9/1)
11	=	Chloroform/Aceton (1/1)
12	=	Tetrachlorkohlenstoff/Aceton/Ammoniak (45/90/20)
13	=	Tetrachlorkohlenstoff/Aceton/Ammoniak (20/90/20)
14	=	Benzin/Pyridin (80/20)
15	=	Piperidin/Petroläther (1/5)
16	=	Petroläther/Methanol (1/1)
17	=	Benzol/Essigsäure (9/1)
18	=	Dioxan/Benzol/Ammoniak (20/75/5)
19	=	Dioxan/Benzol/Aceton/Ammoniak (25%) (20/50/28/2)
20	=	Essigsäureäthylester
21	=	Methyläthylketon
22	=	Tetrahydrofuranum
23	=	Ameisensäure
24	=	Äther

Tabelle 10: Sprühreagenzien

1	=	Benzidin/Kaliumjodid ("VIDIC")
2	=	Bromdampf/Zwicker
3	=	Chinin/Pyridin/Kupfersulfat ("HJELT")
4	=	Chinin/Pyridin/Kupfersulfat/Kaliumpermanganat (0,5%)
5	=	m-Dinitrobenzol/Kalilauge
6	=	Diphenylcarbazon (0,1%, alkoh.)/Quecksilber-II-chlorid (1%wässr.)
7	=	Eisen-III-chlorid (5%)
8	=	Formaldehyd (1%) in Schwefelsäure (konz.)
9	=	Joddampf

- 10 = Kaliumjodid/Benzidiazetat
- 11 = Kaliumjodid/Tolidin/Chlor
- 12 = Kaliumpermanganat
- 13 = Kaliumpermanganat/Natriumcarbonat
- 14 = Kaliumpermanganat/Natronlauge
- 15 = Kobaltnitrat
- 16 = Palladium-II-dichlorid
- 17 = Quecksilber-I-nitrat
- 18 = Quecksilber-I-nitrat auf Dichlorfluoreszeinplatte
- 19 = Reagenz nach MUNIER-MACHEBOEUF (Wismutsubnitrat/Kaliumjodid/Eisessig/Wasser)
- 20 = Silbernitrat (5%) / Ammoniak (25%) (9/1)
- 21 = Silbernitrat (2%) / Bromphenolblau (0,4%)

Tabelle 11: U V - Licht

- 1 = Alkalische Vorbehandlung mit
Ammoniak (25%),
Natronlauge (0,5 n),
Kalilauge (0,5 n) oder
Kalilauge (0,5 n, methylalkoholisch)
- 2 = Bromphenol/Silbernitrat
- 3 = Chinin/Pyridin/Kupfersulfat (HJELT)
- 4 = Dichlorfluoreszeinlösung (0,2%, alkoholisch)
- 5 = N, N - Dimethylphenyldiamin/Chlorgas
- 6 = N, N - Dimethyl - p - phenylendiamid - dihydrochlorid
in Natriumäthylatlösung
- 7 = m - Dinitrobenzol/Kalilauge
- 8 = Fluoreszeinnatriumlösung (verdünnt)
- 9 = Fluoreszeinnatrium in Wasser/Bromdampf
- 10 = Kaliumferricyanid (1,6%/Kalilauge (2n)
- 11 = Quecksilber - I - Nitrat (1%)
- 12 = Reagenz nach EHRLICH
- 13 = Selenige Säure/Schwefelsäure (konz.)
- 14 = UV-Licht
- 15 = UV-Licht (254 mμ)
- 16 = UV-Licht (366 mμ)
- 17 = Vanillin/Schwefelsäure (konz.) (auf 100°C erhitzt)
- 18 = Zusatz zur Platte:
Fluoreszierende Schicht

Fortsetzung Tabelle 11: UV-Licht

- | | | |
|----|---|---|
| 19 | = | Leuchtstoff ZS Super (Riedel de Haen) (1%) |
| 20 | = | Zinksilikat/Leuchtstoff (General Elektrik,
Cleveland (Ohio) (0,8%)) |

Tabelle F: Angaben in der Literatur

Extrakt	Pl.	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
ÄTHYLCHLORVINYLÄTHINYLCARBINOL (CRB)						
-	-	-	-	-	-	-
in vitro						
in vivo						
B, G, U	1	10 17 18	95 32 95	))12/17)	-	11
METHYLDIHYDROXYPHENYLBUTIN (BUT)						
in vitro						
1	1	1 10 10	77 StA + 99 37 StB + 49	)))18sB→GB)	))) _{4hx})	70
1	1	10 07	50 90	)) _{17s/16BG/6^h_I}	-	8

+
s. Hinweis S. 67!

Extrakt	Pl.	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
Fortsetzung: METHYLDIHYDROXYPHENYLBUTIN (BUT)						
U	1	7	-	17s	-	8
U				)		
m ₁	1	19	80	)17gs/12	-	8
m ₂			45	)		
			20	)		

Es sind 2 Metaboliten angegeben (s. PC, Methylldihydroxyphenylbutin!)

METHYLPENTYNOL (PEN)						
-	-	-	-	-	-	-
in vivo						
U	ø					
m ₁			05		)	
m ₂	2	15	08	-	)15/16	17
m ₃			80		)	
m ₄			100		15hG/	
					16hG	

(s. PC Methylpentynol!)

METAQUALONEHYDROCHLORID (QUA)

	in vitro			
1	24	65	19	14 26
	1	90	)	
	1	StA 117	)	
1	10	59	) 18Gw → GB	4d 70
	10	StB 78	)	
2	15	80	17w	11hG/ 15/ 16hG
				17
4	4	90	-	19/20 68

U	Ø	in vivo			
		-	-	-	-
m ₁		08		)	
m ₂	2	20	-	)15/16	17
m ₃		50		)	
m ₄		70		)	

Es werden 4 Metaboliten angegeben, aber keine unveränderte Substanz (17). Bei papierchromatographischen Versuchen ist in vivo eine unveränderte Substanz ohne Metaboliten beschrieben (s. PC, Metaqualonehydrochlorid!)

Extrakt	Pl.	Laufm.	Rf.	Spütreagenz	UV.	Lit.
ACETYLDIÄTHYLBROMACETYLHARNSTOFF (ACE)						
	1/3	-	-	(1b)/20gs	(18)	24
	3	8	33	20gs	-	
	1	6	-	11	15	68
in vivo						
In vivo Versuche sind papierchromatographisch durchgeführt worden. Metaboliten sind nicht bekannt. (s. PC, Acetyldiäthylbromacetylharnstoff und eigene Versuche, S.100ff!)						
BROMISOVAL (BRO)						
	1/3	-	-	(1b)/(20gs)	(18)	24
	3	8	20	(ϕ :9/12 20gs)	-	
	2	15	60	17b	11/15/ 16bG	17
	1	6	-	11	15	68
	1	5	83	-	-	1

in vivo

O/U/V	1	10	37	) ¹⁰	-	40
m ₁			17	)		
U Ø			-		-	
m ₁			10		)	
m ₂			20		)	
m ₃	2	15	37	-	) ^{15/16}	17
m ₄			55		)	
m ₅			63		)	
m ₆			80		)	

Über das Erscheinen einer unveränderten Substanz bei in vivo Versuchen bestehen unterschiedliche Angaben (17, 40). Von 6 Metaboliten ist nur einer in seiner chemischen Struktur geklärt: m₂ = 3-Methylbutyrylcarbamid (17), (s. PC, Bromisoval!)

Extrakt	Pl.	Laufn.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
CARBROMAL (CAR)						
	1/3	-	-	(ϕ :9/12 (20gs/(1b) 20gs	(18)	24
	3	8	57	20gs	-	-
	2	15	75	17w	11/15/ 16hG	17
	1	21	35	-	12hb	25
	1	6	-	11	15	68
	1	5	87	-	-	1

in vivo						
U					6rv	
m ₁	1	10	65	-	-	4
m ₂			30	12 x	5	
			25	-		
	1	9	68	-	9	41
O, U, V						
m ₁	1	10	65	) ₁₀	-	40
			32	)		

U

m ₁		80		15/16
		40		(15hG/ 16hG
m ₂	2	50	-	15/16
m ₃		68		15/16
m ₄		75		17
				15/16
	1	21	-	12
	3	66	7wG	25

Neben unveränderter Substanz sollen bis zu 4 Metaboliten erscheinen. Zwei sind chemisch bestimmt als 2-Äthyl-2-hydroxybuttersäure (m₁ (4), m₁ (25)) und 2-Äthylbutyrylurea (m₂ (4), m₁ (40)). Bei papierchromatographischen Versuchen ist ein weiterer Metabolit als Hydroxycarbomal beschrieben (s. PG, Carbroma!).

ETHINAMATHE (ETH)

in vitro

	1	82	)	)
	1	StA 105	)	)
1			)18sb→hG	4hx/ 14hb
	10	44	)	)
				70
1	1	80	17s/3w/4G	3b
2	15	45	17r	11hG/ 15hG/ 16hG
1	1	-	3/12/17	17
				21

Extrakt	Pl.	Laufm.	Rf.	Spüthreagenz	UV.	Lit.
Fortsetzung : ETHINAMATHE (ETH)						
U		10	81	)		
U		17	65	) _{12/17}		
U	1	18	55	)	-	11
m ₁		11	-	-		
U	1	1	-	3/12/17	-	21
U			80	3w/4G/17		
m ₁	1	1	69	17	-	22
U Ø			-		-	
m ₁			08		)	
m ₂	2	15	18	-	) _{15/16}	
m ₃			28		)	17
m ₄			63		)	
m ₅			08		)	

Es werden 5 Metaboliten angegeben bei Fehlen der unveränderten Substanz (17). Andere Autoren beschreiben einen Metaboliten m₁ = Hydroxyethinamate neben unveränderter Substanz (11, 22). Ein weiterer Metabolit wurde bei papierchromatographischen Versuchen festgestellt und als 1-Äthinylcyclohexanol-(1) beschrieben (s. PC, Ethinamate!).

ÄTHYLPHENYLHYDANTOIN (HYD)

-	-	-	-	-	in vitro
-	-	-	-	-	-

in vivo

B, O, U	1	9	15	2	8	42
---------	---	---	----	---	---	----

MEPHENYTOINE (MEP)

in vitro

-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-

in vivo

B, O, U	1	9	45	-	13	42
---------	---	---	----	---	----	----

PHENYTOIN (PHE)

in vitro

-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-

in vivo

B, O, U	1	9	25	2	8	42
---------	---	---	----	---	---	----

In der Papierchromatographie ist ein Metabolit als Hydroxydiphenylhydantoin bekannt
(s. PC, Phenytoin !)

Extrakt	Pl.	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
DIHYPRYLON (DIH)						
-	-	-	-	-	-	-
in vitro						
in vivo						
K	1	10	26-28	17g	15	3
GLUTETHIMIDE (GLU)						
in vitro						
1	2	77	)	) _{2Gv/}	) _{17W}	29
1	1	85	)13WR/17dg	)	)	
	12	83	)	)	)	
	1	88	)	)	)	
	1	StA 114	)	)	)	
1	10	57	)18gb→o	)4hx	)	70
	10	StB 76	)	)	)	
1	1	88	3w/4w/17g	3b		22
2	15	90	17g	11hG/	15/	17
					16hG	

	1	14	67	1G mit db Rand	-	50
	1	1	-	3/12/17	-	21
in vivo						
Ge	1	14	67	1G mit db Rand	-	50
B, G, U		10	80	)		
	1	17	54	)17	-	11
		18	99	)		
	1	12/13	-	17g	2Gv	49
U	1	1	-	3/12/17	-	21
K	1	10	77-79	17s	15	3
U			88	3w/4w/(17)	3b	
	1	1	78	3w/4G/(17)	3b	22
			50	(17)	-	
U			-		-	
	2	15	60	-	15/16	17
			90		)15hG/	
					)16hG	
U, G, K	1	16	70	19 $\alpha \rightarrow$ B/8v	-	71

Es werden 2 Metaboliten angegeben. $m_1 = \alpha$ -Phenylglutarimid (22). 2 weitere Metaboliten sind mit der Papierchromatographie erfaßt, ihre chemische Struktur ist allerdings nicht geklärt (s. PC, Glutethimide!).

Extrakt	Pl.	Laufn.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
MECLOZINE (MEC)						
	1	1	05	)		
		1	StA 07	)		
1	10	10	23	)18w→hG	4hx	70
		10	StA 31	)		

in vivo

Zu in vivo-Untersuchungen s. den experimentellen Teil dieser Arbeit, S. 100!

METHYPRYLON (MET)						
	2	74	)12 ^G / _R 14xG/13G	) _{7v}		29
1	12	70	)5Rv/21 ^{WG} / _{dG}	)		
	1	84	)	)		
	1	StA 107	)18hg→y	) _{4hx}		70
1	10	23	)	)		
	10	StB 31	)	)		
1	1	85	3w/4G/17g	3b		22
2	15	50	17r	11hG/		17
				15hG/		

in vivo

B, G, U	1	10	50	)		
		17	81	)12/17	-	11
		18	45	)		
	1	12/13	-	5Rv/12G	7v	49
K	1	10	34-36	17w	15	3
U	1	1	85	17/3w/4G	3b	22
m ₁			22	17/4G		
U			50	)	)	
m ₁			13	)	)	
m ₂	2	15	20	-	)15/16	17
m ₃			64		)	
m ₄			98		(15hG/	
					(16hG	
U		20/21	80		10db	
m ₁		20/21/22	89		1Gb	
m ₂		20/21/22	76		1xb	25
m ₃	1	23	62	-	1wb	
m ₄		20/21	90		1hb	
m ₅		20/21	74		1hb	

Fortsetzung: METHYPRYLON (MET)

in vivo

Folgende Metaboliten wurden nachgewiesen (25)

1. 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-5-methyl-tetrahydropyridin
2. 2,2-Dioxo-3,3-diäthyl-5-hydroxymethyltetrahydropyridin
3. 4,6-Dioxo-5,5-diäthyl-tetrahydronicotinaldehyd
4. 4,6-Dioxo-5,5-diäthyl-tetrahydronicotinsäure
5. 2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-tetrahydropyridin

Eine unveränderte Substanz bei in vivo Versuchen wird bei der Dünnschichtchromatographie immer - bei der Papierchromatographie aber nur vereinzelt - beschrieben (s. PC, Methypylon!)

Extrakt	Pl.	Laufn.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
PYRITHYLDIONE (PYR)						
1/3	-	-	-	1b/GB/12	18	24
1	1	1	82	)	)	
	1	1	StA 104	)	) _{4d/}	70
	10	10	40	)18 GB- w	) _{1hb}	
	10	10	StB 53	)	)	
	1	1	77	17g/3w/(4G)	3b	22
2	15	15	40	17g	11/15/	
					16b	17

	2	74	)17dg/12 $\frac{G}{R}$	)
1	1	80	)14xG/13G	)1 tx 29
	12	75	)21 $\frac{wG}{dG}$	)

in vivo				
	1	12/13	-	49
K	1	10	1tx/17g/12G	-
			17s	15 3
U			40	15/16
m ₁			20	15/16
m ₂	2	15	-	(15hG/ 17
				(16hG
m ₃			80	(15hG/
				(16hG

Es sind 3 Metaboliten erwähnt, die chemische Struktur ist aber nicht bekannt.

Extrakt	Pl.	Laufm.	Rf.	Sprühreagenz	UV.	Lit.
THALIDOMIDE (THA)						
	1	14	25	1db	-	50
	1	1	-	15	-	21
in vivo						
G	1	14	25	1db	-	50
U	1	1	-	15	-	21
K	1	10	44-46	17w	15G	3

2. Diskussion der Identifizierungsmöglichkeiten

a) Rf-Werte, Metaboliten und Laufmittel (Tabelle G)

Vgl. Anmerkungen zu Tabelle C, S. 39! Die Aufschlüsselung kann nach Tabelle 8 vorgenommen werden.

1. Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (45/45/10) ("DEININGER")

Platte: 1

QUA	90		
GLU	88	85	
MET	85	84	
PYR	82	80	77
ETH	82	80	
BUT	77		
MEC	07		

Platte: 1

MET	85
m ₁	22
GLU	88
m ₁	78
m ₂	50
ETH	80
m ₁	69

Dieses in der Papierchromatographie vielbenutzte Laufmittel trennt die bis ins obere Drittel der Platte wandernden "Nichtbarbiturate" teilweise ungenügend auf.

QUA/GLU, GLU/MET, MET/PYR/ETH und PYR/BUT ergeben hinsichtlich einer alleinigen Trennung durch die Rf-Werte in vitro gewisse Schwierigkeiten. In vivo ist eine Charakterisierung der Substanzen durch die Metaboliten möglich.

2. Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (60/30/10)

Platte: 1

GLU	77
MET	74
PYR	74

MET/PYR haben denselben Rf-Wert.

3. Propanol/Ammoniumcarbonatlösung (1/2)

Platte: 1

CAR	66
-----	----

4. Cyclohexan/Isopropanol/Ammoniak (25%)

Platte: 4 -----

QUA 90

5. Chloroform/Isopropanol/Wasser (8/8/4)

Platte: 1 -----

CAR 87

BRO 83

6. Cyclohexan/Chloroform/Pyridin (20/60/5)

Es liegen in vitro Untersuchungen über ACE/BRO/CAR ohne Angaben des Rf-Wertes vor.

7. Chloroform/n-Butanol/Ammoniak (25%) (70/40/5)

Platte: 1 -----

BUT 90

8. Chloroform

Platte: 3 -----

CAR 57

ACE 33

BRO 20 -----

9. Chloroform/Äther (85/15)

Platte: 1

CAR 68

MEP 45

PHE 25

HYD 15

10. Chloroform/Aceton (9/1)

Platte: 1

GLU 57¹

BUT 50 37⁴

ETH 44

Platte: 1

CRB 95

ETH 81²

GLU 80² 77-79³

PYR	40 ¹
MEC	23
MET	23

CAR	65
m ₁	30 32
m ₂	25
QUA	59
PYR	57-59 ³
MET	50 ² 34-36 ³
THA	44-46
BRO	37
m ₁	17
DIH	26-28

Zwischen den in vitro-Versuchen von UHLMANN¹ (70) und den entsprechenden Ergebnissen, die COCLIN² (11) und BÄUMLER³ (4) vorlegen, besteht eine große Diskrepanz, deren Ursache nicht geklärt werden konnte. Ein in vitro-Versuch von BURGER⁴ (8) ergibt ebenfalls eine erhebliche Abweichung von dem Wert von UHLMANN¹ (70). Für sich allein betrachtet, trennt dieses Lösungsmittel in vitro bis auf MEC/MET und in vivo bis auf ETH/GLU und QUA/PYR gut auf.

11. Chloroform/Aceton (1/1)

In diesem Laufmittel ist allein ein Metabolit von ETH beschrieben; ein Rf-Wert wird nicht angegeben.

12. Tetrachlorkohlenstoff/Aceton/Ammoniak (45/90/20)

Platte: 1

GLU	83
PYR	75
MET	70

13. Tetrachlorkohlenstoff/Aceton/Ammoniak (20/90/20)

In vivo sind GLU/MET/PYR untersucht, Rf-Werte sind nicht angegeben.

14. Benzin/Pyridin (80/20)

Platte: 1

GLU	67
THA	25

15. Piperidin/Petroläther

Platte: 2

GLU	90
QUA	80
CAR	75
BRO	60
MET	50
ETA	45
PYR	40

Platte: 2

CAR	80
m ₁	40
m ₂	50
m ₃	68
m ₄	75
PYR	40
m ₁	20
m ₂	70
m ₃	80
MET	50
m ₁	13
m ₂	20
m ₃	64
m ₄	98
PEN	Ø
m ₁	05
m ₂	08
m ₃	80
m ₄	100
BRO	Ø
m ₁	10
m ₂	20
m ₃	37
m ₄	55
m ₅	63
m ₆	80
GLU	Ø
m ₁	60
m ₂	90
QUA	Ø
m ₁	08
m ₂	20
m ₃	50
m ₄	70

ETH	Ø
m ₁	08
m ₂	18
m ₃	28
m ₄	63
m ₅	08

16. Petroläther/Methanol (1/1)

Platte: 1

GLU	70
-----	----

17. Benzol/Essigsäure (9/1)

Platte: 1

MET	81
ETH	65
GLU	54
CRB	32

18. Dioxan/Benzol/Ammoniak (20/75/5)

Platte: 1

GLU	99
CRB	95
ETH	55
MET	45

19. Dioxan/Benzol/Aceton/Ammoniak (25%) (20/50/28/2)

Platte: 1

BUT	80
m ₁	45
m ₂	20

20. Essigsäureäthylester

Platte: 1

MET	80
m ₁	89
m ₂	76
m ₃	90
m ₄	74

21. Methyliäthylketon

Platte: 1

CAR 35

Platte: 1

MET 80

m₁ 89

m₂ 76

m₃ 90

m₄ 74

CAR 35

m₁ 66

22. Tetrahydrofuranum

Platte: 1

MET $\emptyset$

m₁ 89

m₂ 76

23. Ameisensäure

Platte: 1

MET $\emptyset$

m₃ 62

24. Äther

Platte: 1

QUA 65

Diskussion

Die Verlässlichkeit der Rf-Werte und die Wahl der Lösungsmittel wurden bereits bei der Papierchromatographie besprochen.

Berücksichtigt man die Trennfähigkeit der Laufmittel für "Nichtbarbiturate", so ergibt sich in der Dünnschichtchromatographie folgendes Bild:

Laufmittel, in denen höchstens 2 Substanzen beschrieben werden oder für die keine Rf-Werte vorliegen:

3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 14, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24.

Lösungsmittel, bei denen entweder in vitro oder in vivo keine ausreichenden Untersuchungen bekannt sind:

in vitro: 9, 17, 18

in vivo: 2, 8, 12.

in vitro-Versuche:

Mit Laufmittelgemisch 2 sind nur wenige Substanzen untersucht, die schlecht auftrennen.

In Lösungsmittel 1 wandern die Nichtbarbiturate in das obere Drittel der Platte und trennen nicht voll befriedigend auf.

Mit dem Laufmittel 8 und 12 lassen sich gute Ergebnisse erzielen. Es müßten aber noch mehr Substanzen untersucht werden.

Die Resultate mit Laufmittel 10 weichen von in vivo-Versuchen anderer Autoren und in einem Falle (Meclozin) von eigenen Untersuchungen auffallend ab, sind aber für sich betrachtet gut verwertbar.

Als sehr gut geeignet erscheint das Lösungsmittel 15.

in vivo-Versuche:

Eine zufriedenstellende Auftrennung läßt sich mit Lösungsmittel 10 durchführen. Es sei aber auf die Rf-Wertabweichungen gegenüber in vitro-Ergebnissen hingewiesen.

Laufmittel 1, 10, 9, 17, 18 trennen gut auf; bei den drei letzten fehlen aber Angaben über Metaboliten. Im Gegensatz zu in vitro-Untersuchungen können mit Laufmittel 1 die "Nichtbarbiturate" durch ihr Metabolitenbild differenziert werden.

Das beste Lösungsmittelgemisch scheint wiederum Nr. 15 zu sein.

Tabelle H: Sprühreagenzien ⁺⁾

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CRB									
BUT						h			
PEN						R			
QUA									
ACE	(b)								Ø
BRO	b								Ø
m ₁									
CAR	b								Ø
m ₁							wG		
m ₂									
ETH			w/+	G					
m ₁									
HYD		+							
MEP									
PHE		+							
DIH									
GLU	G, db Rand		w/+	w				v	
m ₁			w	G					
MEC									
MET			w	G	Rv				
m ₁									
m ₂									
m ₃									
m ₄									
m ₅									
PYR	b/tx		w	(G)					GB
THA	db								

⁺⁾ s. Vorbemerkungen zu Tabelle D, S. 56!

	10	11	12	13	14	15	16	17	18
CRB			+					+	
BUT	+						BG	S/gs	sb→GB
PEN									
QUA								w	Gw→GB
ACE		+	∅						
BRO	+	+	∅					B	
m ₁									
CAR	+	+	∅					+	
m ₁			x						
m ₂									
ETH			+					S/r/+	sb→hG
m ₁								+	
HYD									
MEP									
PHE									
DIH									
GLU			+	wR				g	
								dg/s/g/+	gb→o
								(+)	
m ₁								(+)	
MEC									w→hG
MET			G/R/G/+	G	xG			g/w/t/+	hg→y
m ₁									
m ₂									
m ₃									
m ₄									
m ₅			G/R/G/+	G	xG			g/dg/s	gB→w
PYR									
THA						+		w	

	19	20	21
CRB			
BUT			
PEN			
QUA	+		
ACE		g^s	
BRO		$g^s/(g^s)$	
m_1			
CAR		g^s	
m_1			
m_2			
ETH			
m_1			
HYD			
MEP			
PHE			
DIH			
GLU	or $\rightarrow$ B		
m_1			
MEC			
MET			$\frac{wG}{dG}$
m_1			
m_2			
m_3			
m_4			
m_5			
PYR			$\frac{wG}{dG}$
THA			

Tabelle I: UV-Licht +)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CRB										
BUT				hx						
PEN										
QUA				d						
ACE										
BRO										
m ₁										
CAR						rv			+	
m ₁										
m ₂					+					
ETH			b	hx						
m ₁										
HYD								+		
MEP										
PHE								+		
DIH										
GLU		Gv	b	hx						
m ₁			b							
MEC				hx						
MET			b	hx			v			db
m ₁	Gb									
m ₂	xb									
m ₃	wb									
m ₄	hb									
m ₅	hb									
PYR	hb		b	d						
THA	$\frac{hb}{\overline{tx}}$									

+))

s. Vorbemerkungen zu Tabelle D, S. 56!

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
CRB										
BUT										
PEN										
QUA	hG			+	+	hG			+	+
ACE					+			(+)		
BRO	+				+	hG		(+)		
m ₁					+	+				
CAR	+	hb/+			+	hG/+		(+)		
m ₁										
m ₂										
ETH	hG			hb	hG	hG				
m ₁										
HYD										
MEP			+							
PHE										
DIH					+					
GLU	hG				+	hG	w			
m ₁										
MEC										
MET	hG				+/hG	+/hG				
m ₁										
m ₂										
m ₃										
m ₄										
m ₅										
PYR	+				+	b/+		+		
THA					G					

Diskussion

Im papierchromatographischen Teil dieser Arbeit wurde an Hand von Beispielen bereits die Brauchbarkeit der Sprühreagenzien und des UV-Lichtes zum Nachweis und zur Differenzierung der "Nichtbarbiturate" diskutiert.

In der Dünnschichtchromatographie liegen bis jetzt aber noch zu wenig Untersuchungen vor, um ähnlich günstige Ergebnisse erwarten zu können. Stellt man hier wie bei der Papierchromatographie die Differenzierungsmöglichkeiten zwischen Glutethimide und Methypylon mit Hilfe der Sprühreagenzien zusammen, so ergibt sich folgendes Bild:

α) Bewertung unmöglich, da keine oder nur eine Substanz untersucht sind:

1, 2, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 16, 19, 20, 21.

β) Widerspruchsvolle Angaben von verschiedenen Autoren, die ebenfalls keine Beurteilung zulassen:

17.

γ) Beide Mittel ergeben die gleiche Reaktion:

3, 12.

δ) Unterschiedlicher Reaktionsausfall mit nur geringer Farbverschiedenheit:

4, 13, 18.

ε) Unterscheidung möglich:

Beim Nachweis im UV-Licht, der in der Dünnschichtchromatographie relativ häufiger als in der Papierchromatographie durchgeführt wird, ergibt sich überhaupt keine Auftrennung. Durch den in das Kieselgel eingearbeiteten Fluoreszenzindikator ist es jedoch möglich, die Lage des Fleckens bequem unmittelbar nach Herausnahme der Platte aus dem Laufmittel und kurzer Lufttrocknung festzustellen. Dieses ist, wie es sich auch in den eigenen, noch zu besprechenden Versuchen herausgestellt hat, zur ersten Orientierung in jedem Falle sehr geeignet. Anschließend kann mit Sprühreagenzien die weitere Differenzierung erfolgen.

B. EXPERIMENTELLER TEIL

I. PROBLEMSTELLUNG

Aus der Literaturzusammenstellung ist zu ersehen, daß über barbitursäurefreie Hypnotika papierchromatographische Untersuchungen in großer Zahl vorliegen. Mit der dünn-schichtchromatographischen Methode hingegen sind einige Mittel überhaupt noch nicht oder nur in geringem Umfang erfaßt.

Aufgabe des experimentellen Teiles dieser Arbeit sollte es deshalb sein, zwei "Nichtbarbiturate" dünn-schichtchromatographisch *in vitro* und *in vivo* ergänzend zu untersuchen.

Ausgewählt wurden Acetyldiäthylbromacetylharnstoff und Meclozine.

Über diese beiden Substanzen lagen nur spärliche dünn-schichtchromatographische Angaben vor:

α) Acetyldiäthylbromacetylharnstoff.

Dieses Harnstoffderivat haben STAHL (68) und GÄNSHIRT (24) beschrieben, wobei nur letzterer einen Rf-Wert angibt. *In vivo*-Versuche wurden in der durchgesehenen Literatur nicht gefunden.

β) Meclozine.

Über dieses Derivat der Pyridin-Piperidin-Gruppe teilt lediglich UHLMANN (70) in einer Arbeit Ergebnisse bei *in vitro*-Versuchen mit.

Zur Durchführung der Versuche wurde für

Acetyldiäthylbromacetylharnstoff das Handelspräparat Abasin (R) und für Meclozine Calmonal (R) gewählt.

Letzteres stellt das Dihydrochlorid der Grundsubstanz dar.

Abasin (R) ist rezeptfrei, Calmonal (R) unterliegt der Rezeptpflicht.

Im Zusammenhang mit den eingangs der Arbeit behandelten Fragen interessiert es, welche Wirkungsweise diese Präparate laut den Angaben der Herstellerfirmen haben sollen.

Abasin (R) wird als "Sedativum" und "mildes Hypnotikum" beschrieben, Calmonal (R) u. a. als "Durchschlafmittel mit folgender Tagessedierung" bezeichnet.

Beide Pharmaka können zu Intoxikationen führen. Außerdem ist ein Einnehmen aus Gewöhnung oder Sucht denkbar. Nicht zuletzt kann es durch die sedative Wirkungsweise zu einer Beeinträchtigung der Fahrleistung im Verkehr kommen.

Es sei noch vermerkt, daß im Präparat Bonamine (R) "Roerig" das Hydrochlorid des Meclozins vorliegt. Es wird nicht als Hypnotikum, sondern als Mittel gegen Bewegungskrankheiten (See-, Luft-, Auto- und Eisenbahnkrankheiten) angewandt. Obwohl es pro Tablette eine wesentlich geringere Wirksubstanz enthält als Calmonal (R), sind eine Intoxikation und evtl. - bei unvorsichtigem Gebrauch - auch eine Verkehrsfährdung nicht unbedingt auszuschließen.

II. MATERIAL UND METHODIK

1. Versuchsanordnung

a) Versuche in vitro:

Als Test- und Reinsubstanz wurde jeweils eine 0,1%ige Lösung hergestellt. Dazu wurden die Tabletten in 70%igem Methanol gelöst.

b) Versuche in vivo:

Es sollten zunächst Tierversuche durchgeführt werden. Da es sich aber als zu schwierig und unsicher erwies, nach Applikation hypnotisch wirkender Dosen konstant ausreichende Mengen Urin von Kaninchen zu erhalten, wurden für die Untersuchungen Versuchspersonen ausgewählt.

Jedes Medikament wurde an 6 männliche bzw. weibliche Personen, die gesund sein mußten und in der letzten Zeit keine Arzneimittel eingenommen haben durften, ausgehändigt. Der vor Einnahme des Hypnotikums erhaltene Leerurin und der Morgenurin (etwa 8-12 Stunden nach Applikation) wurden aufgearbeitet. Da die Versuche nur im Bereich der therapeutischen Dosis durchführbar waren, wurden die Präparate in folgender Menge verabreicht:

Abasin (R):	1 Tablette à 250 mg
Calmonal (R):	1 Tablette à 150 mg

Die Versuchspersonen klagten übereinstimmend über Dösigkeit, Benommenheit und mäßige Ataxie am Morgen nach der Einnahme von Calmonal (R). Bei Abasin (R) wurden keine derartigen Effekte festgestellt.

2. Aufarbeitung und Ausschüttelung des Urins

Leerurin und Urin nach Applikation wurden in demselben Arbeitsgang unter gleichen Bedingungen aufgearbeitet und ausgeschüttelt.

Zunächst wurden 100 ml des zu untersuchenden Urins über einem Wasserbad

eingedampft. Der Rückstand wurde mit 100 ml Äthanol (96%) aufgenommen, mit Weinsäure angesäuert, 5-10 Minuten verrührt, der Überstand filtriert (Filterpapier Schleicher und Schüll Nr. 597) und das Filtrat erneut eingedampft. Dieser Rückstand wurde dann mit 25 ml Aqua dest. aufgelöst und über Filterpapier (Schleicher und Schüll Nr. 597) filtriert.

Die wässrige Lösung wurde 3 - 5 Minuten mit je 25 ml Diäthyläther p. a. im Rührapparat ausgeschüttelt, die Ätherphasen im Schütteltrichter gesammelt und nach Hinzugabe von 2 Spatelspitzen "carbo activatus siccus p. a." und Natriumsulfat wasserfrei p. a. " über Nacht stehen gelassen. Am nächsten Morgen wurde filtriert (Schleicher und Schüll-Filterpapier Nr. 589 ³) und das Filtrat über dem Wasserbad (ca. 80°C) tropfenweise in ein Porzellanschälchen gegeben. Der fest Rückstand ließ sich mit 1 cm³ Äthanol (70%) aufnehmen und auf die Platte auftragen.

3. Herstellung der Platten

Als Kieselgel für die 20 x 20 cm großen Glasplatten wurde Kieselgel DSF-5 mit Fluoreszenzindikator von CAMAG ausgewählt. Das Aufgießen der nach Angaben (60 g Kieselgel auf 100 ml Aqua dest.) hergestellten Suspension ergab mit dem Beschichtungsgerät von CAMAG eine Schichtdicke von ca. 0,25 mm. Nach kurzer Lufttrocknung wurden die Platten im Trockenschrank 30 Minuten bei 110°C getrocknet und vor Gebrauch nochmals 10 Minuten bei 110°C aktiviert, falls sie länger als einen Tag der Luftfeuchtigkeit ausgesetzt waren.

4. Auftragen der Substanz

Die aufzutragenden Substanzen wurden mit einer Blutzuckerpipette unter Föhntrocknung 1,5 cm vom unteren Rand der Platte entfernt aufgetragen. Um zufällige Berührung des Kieselgels mit dem feuchten Filterpapier in der Laufkammer zu vermeiden, wurden die seitlichen Plattenränder 0,5 cm breit abgestrichen. Die Begrenzung der Laufmittelfront 10 cm über der Startlinie war mit einem durchgezogenen Strich markiert. Mit der Blutzuckerpipette wurden 0,01 bis 0,03 ml (entsprechend 10-30 γ der 0,1%igen Testlösungen) aufgetragen.

Eine Platte wurde in der Regel folgendermaßen beschickt:

Leerversuch: 2 Flecke, in vivo-Versuch: 4 Flecke, in vitro-Versuch (=Testversuch): 3 Flecke.

Für die graphische Auswertung (s. u. !) wurde das arithmetrische Mittel der einzelnen Rf-Werte bestimmt.

5. Verwendete Lösungsmittel

Als Lösungsmittel wurden verwendet:

Lösungsmittel I: Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%)
(45:45:10) nach "DEININGER"

Lösungsmittel II: Chloroform/Aceton (3/1)

Von den Lösungsmittel wurden jeweils 100 ml in die Entwicklungskammer (22x22x7 cm) gegeben, so daß die Platten ca. 1 cm in das Laufmittel eintauchten. Die Klimatisierungsdauer der mit einem Schliffdeckel fest verschlossenen und mit Filterpapier ausgekleideten Kammer betrug ca. 2-3 Stunden. Das Lösungsmittel wurde nicht länger als 1-2 Tage benutzt. Temperatur und Luftfeuchtigkeit des Arbeitsraumes konnten nicht näher berücksichtigt werden.

6. Detektion der Substanzen

Der in das Kieselgel eingearbeitete Fluoreszenzindikator ermöglichte es, mit der UV-Lampe (CAMAG-Gerät) die Flecken nach kurzer Lufttrocknung der Platte dann sofort sichtbar werden zu lassen. Es genügte im allgemeinen das "kurzwellige" UV-Licht (254 nm), um die Substanzen als dunkle bzw. dunkelblaue Flecken auf grünlich fluoreszierender Platte zu erkennen.

Harnpflichtige Substanzen, die in verschiedenem Umfange mitliefen, ergaben die gleiche Reaktion. Als zusätzliches Sprühreagenz wurde das Reagenz nach MUNIER (Wismutsubnitrat und Kaliumjodid in Eisessig) benutzt.

III. ERGEBNISSE

a) Abasin ^(R), (Acetyldiäthylbromacetylharnstoff)

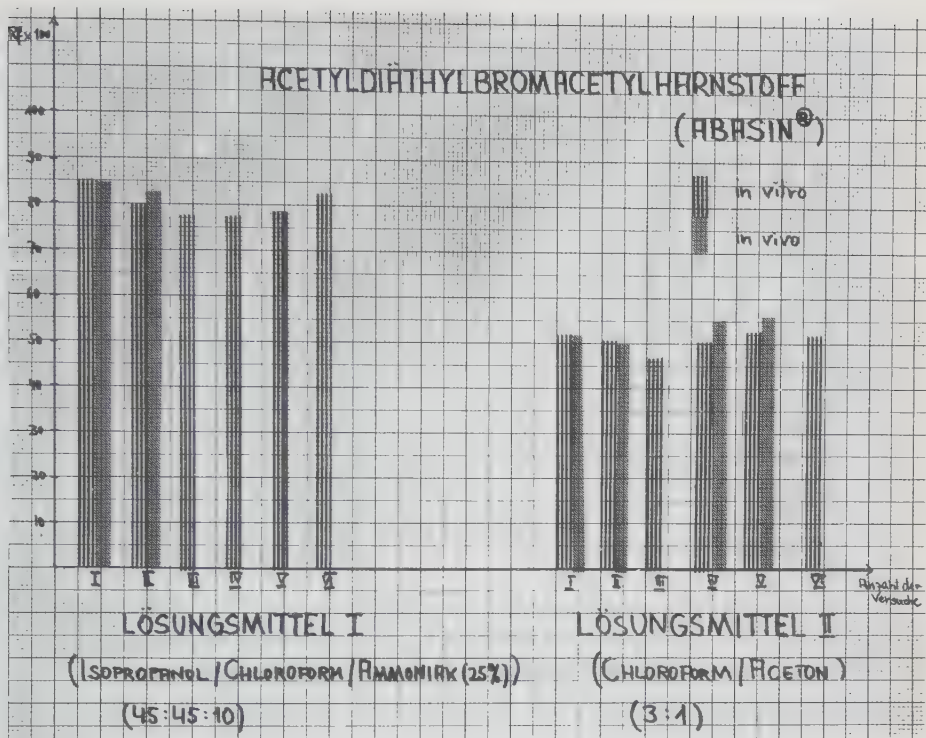
Versuch	Lösungsmittel I		Versuch	Lösungsmittel II	
	vitro	vivo		vitro	vivo
I	0,85	0,85	I	0,52	0,52
II	0,80	0,83	II	0,51	0,50
III	0,78	--	III	0,48	--
IV	0,78	--	IV	0,51	0,55
V	0,79	--	V	0,53	0,56
VI	0,83	--	VI	0,52	--

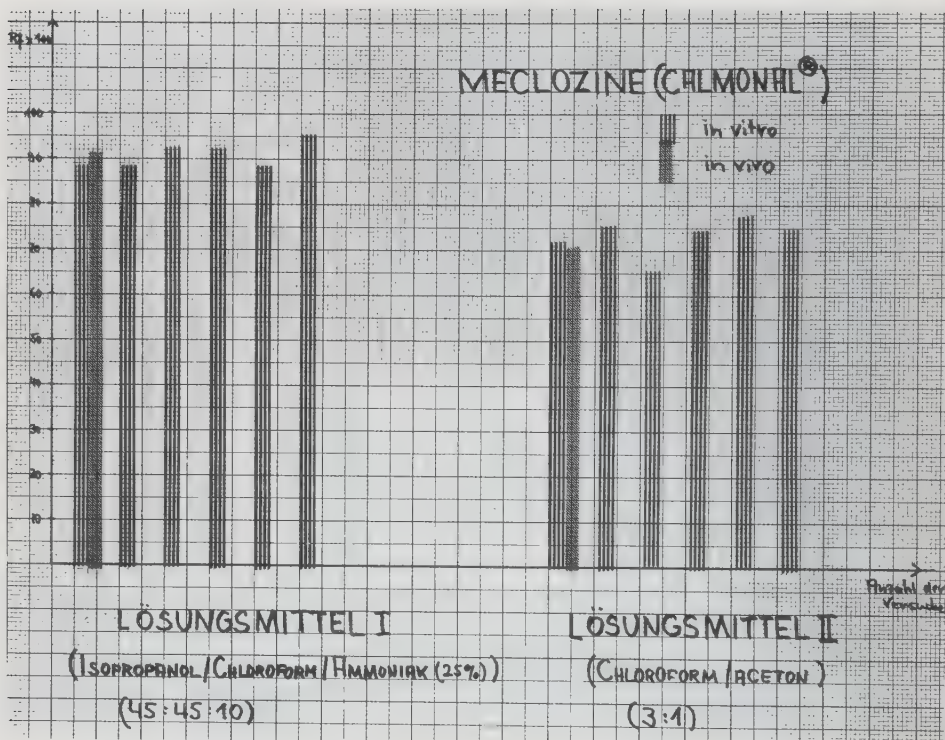
Positiver Nachweis im UV-Licht (dunkelblauer Fleck auf grünlich fluoreszierendem Untergrund), kein Nachweis mit dem Sprühreagenz.

b) Calmonal ^(R), (Meclozine)

Versuch	Lösungsmittel I		Versuch	Lösungsmittel II	
	vitro	vivo		vitro	vivo
I	0,89	0,92	I	0,72	0,71
II	0,89	--	II	0,76	--
III	0,93	--	III	0,65	--
IV	0,93	--	IV	0,75	--
V	0,89	--	V	0,77	--
VI	0,96	--	VI	0,75	--

Nachweis im UV-Licht (dunkelblauer Fleck auf grünlich fluoreszierendem Untergrund) und mit dem Sprühreagenz (oranger Fleck auf gelbem Grund).





IV. DISKUSSION

Im experimentellen Teil der Arbeit war zu klären, wie die bereits in vitro untersuchten Hypnotika Abasin (R) (Acetyldiäthylbromacetylarnstoff) und Calmonal (R) (Meclozine) nach Körperpassage im Harn dünn-schichtchromatographisch zu erfassen sind. Es bleibt dabei zu berücksichtigen, daß an diese Arbeitsmethode im forensisch-toxikologischen Bereich bzw. in dem der Verkehrsmedizin jeweils besondere Anforderungen gestellt werden.

Wenn man den Urin nach dem beschriebenen Arbeitsgang aufarbeitet und ausschüttelt, wird man nicht vor 3 Stunden die Platten mit der zu prüfenden Substanz beschicken können. (Hierbei wird die Ätherphase nur 15 Minuten getrocknet und nicht über Nacht stehen gelassen.) Die gleiche Zeit ist aber auch durchschnittlich nötig, um bei frisch angesetztem Laufmittel eine ausreichende Kammerdampfsättigung zu erhalten. Rechnet man zum Auftragen der Substanzen, zum Laufen des Lösungsmittels und zur Sichtbarmachung unter der UV-Lampe nochmals $3/4 - 1\ 3/4$ Stunden, so läßt sich nicht vor $3\ 3/4$ bis $4\ 3/4$ Stunden ein Ergebnis vorlegen. Handelt es sich beispielsweise um eine Vergiftung, die rascher toxikologischer Klärung bedarf, so erscheint dieser Zeitaufwand doch als recht groß.

Die Versuche wurden mit 2 Lösungsmitteln durchgeführt. Das Lösungsmittel I (Isopropanol/Chloroform/Ammoniak (25%) (45/45/10)) hatte bei dem Vergleich der bereits bekannten Rf-Werte keine voll befriedigende Trennung der Nichtbarbiturate untereinander ergeben, wenn man nicht die Metaboliten hinzuzog. Da aber die Steighöhen zahlreicher "Nichtbarbiturate", Barbiturate und Pharmaka anderer Stoffklassen, die u. U. abgetrennt werden müssen, in diesem Laufmittel bekannt sind, wurde auf dieses Gemisch nicht verzichtet. Seine Laufdauer beträgt ca. 1 Stunde. Lösungsmittel II (Chloroform/Aceton (3/1)) benötigt eine wesentlich kürzere Zeit (etwa 35 Minuten), weshalb es bei rasch durchzuführenden Untersuchungen vorzuziehen ist. Rf-Werte anderer barbitursäurefreier Hypnotika sind in ihm noch nicht bekannt.

Der Urinextrakt der 6 Probanden, die Abasin (R) eingenommen hatten, wurde jedesmal in beiden Laufmitteln untersucht. Lediglich bei 4 Personen ließ sich ein Nachweis erbringen. Weshalb bei zweien von ihnen aber nur in Lösungsmittel II ein positiver Befund vorlag, konnte nicht geklärt werden. Ein Fehler in der Arbeitsweise ist wenig wahrscheinlich, da die Substanz auf beide Platten mit derselben Blutzuckerpipette direkt nacheinander aufgetragen wurde. Lösungsmittel II ist bei Abasin (R) also Laufmittel I vorzuziehen.

Calmonal (R) ließ sich noch wesentlich schlechter erfassen und war nur bei einer Versuchsperson - allerdings in beiden Lösungsmitteln gleichermaßen - zu bestimmen.

Wie der Nachweis ausfallen wird, wenn bei einer Intoxikation große Mengen der unveränderten Substanz im Harn vorliegen, kann auf Grund dieser Versuche nicht beurteilt werden. Hier bleibt nur festzustellen, daß Abasin (R) und Calmonal (R), wenn sie in therapeutischer Dosis eingenommen werden, im Urin nicht immer zu finden sind.

Es erhebt sich die Frage, ob nicht auch andere Hypnotika und Sedativa, in therapeutischer Dosis appliziert, einer Erfassung mit der Papier- und Dünnschichtchromatographie entgehen können, und ob diese Methoden deshalb für verkehrsmedizinische Belange doch nicht in jedem Falle verwendbar sind, wie es auf den ersten Blick erscheinen mag. Wenn bei einem Verkehrsunfall klinisch der Verdacht auf eine Medikamentenbeteiligung vorlag, papier- oder dünn-schichtchromatographische Untersuchungen aber keinen positiven Nachweis erbrachten, sollte in einem solchen Falle dann noch eine andere Nachweismethode - etwa die Spektralphotometrie - herangezogen werden.

Am Beispiel des Calmonal (R) erläutert, bedeutet das: ein Fahrer, der abends zuvor eine Tablette Calmonal (R) eingenommen hat, kann am nächsten Tag noch so unter dem Einfluß dieses Mittels stehen, daß eine Fahrzeugführung nicht ohne Gefahr möglich ist. Kommt es zu einem Unfall, so kann eine zu dieser Zeit abgenommene Harnprobe trotzdem ein negatives Ergebnis liefern.

Auf Grund des Fischerschen Verfahrens ⁺⁾ sind die Versuchsergebnisse nicht statistisch auswertbar. Sie liegen noch im Bereich des Zufalls. Es lassen sich also keine verbindlichen Rf-Werte für die beiden Substanzen angeben. Man kann jedoch vermuten, daß im Lösungsmittel I Abasin (R) (Rf-Werte von 0,78-0,85) mitten zwischen den anderen "Nichtbarbituraten" im oberen Drittel der Platte etwas schwierig zu differenzieren sein wird. Calmonal (R) hingegen (Rf-Werte von 0,89-0,96) läuft so hoch, daß es vielleicht abzugrenzen ist. Mit Sicherheit kann der in vitro-Wert für Meclozine, den UHLMANN (70) mit 0,05 angibt, als nicht zutreffend bezeichnet werden.

Im Laufmittel II lagen Abasin (R) (Rf-Werte von 0,48-0,56) und Calmonal (R) (Rf-Werte von 0,65-0,77) ausreichend weit auseinander. Metaboliten wurden in keinem der Versuche gefunden. Auch papierchromatographisch sind bisher keine Metaboliten bekannt.

⁺⁾ mit Hilfe der Tabellen: "Signifikanzschranken für den Vierfelder-Test". -
In: Dokumenta Geigy (13), S.109-123

Die Substanzflecken können am einfachsten und schnellsten mit der UV-Lampe sichtbar gemacht werden. Es erwies sich als störend, daß harnpflichtige Substanzen, die am Start als auseinandergezogen und im Bereich der Lösungsmittelfront als mehr runde Flecken imponieren, sich in der Farbe nicht von den Substanzflecken unterscheiden. Dieser Nachteil wurde bei Calmonal^(R) durch die Verwendung des Sprühreagens ausgeglichen, da die harnpflichtigen Substanzen mit ihm keine Reaktion ergaben. Abasin^(R) ließ sich allerdings nicht mit dem Sprühreagens markieren. Dies dient einerseits gut zur Unterscheidung von Calmonal^(R), andererseits muß man die harnpflichtigen Substanzen sorgfältig beachten.

Wie aus kritischer Betrachtung der Literatur und ergänzenden eigenen Untersuchungen zu ersehen ist, wird die Dünnschichtchromatographie zum Nachweis barbituratfreier Hypnotika in therapeutischen oder toxischen Mengen aus Urin nicht immer zu verlässlichen Resultaten führen. Um die Sicherheit der erhaltenen Werte zu erhöhen, müssen weitere Lösungsmittelsysteme und Nachweisreaktionen hinzugezogen werden, wodurch neben vermehrter Arbeit auch noch ein Zeitverlust entsteht.

C. ZUSAMMENFASSUNG

Getrennt nach papier- und dünnschichtchromatographischen Untersuchungen wurden die von 1954 - 1964 in der Literatur vorgefundenen Angaben über Art der Extrakte, Papiersorten bzw. Platten, Laufmittel, Rf-Werte, Metaboliten und Nachweismethoden mit Sprühreagenzien und UV-Licht bei barbitursäurefreien Hypnotika zusammengestellt. Die Möglichkeiten, durch Rf-Werte, Metaboliten, unterschiedliche Laufmittel, verschiedene Sprühreagenzien und UV-Lichtnachweis ein unbekanntes Hypnotikum zu bestimmen, werden diskutiert. Aus den unter solchen Gesichtspunkten aufgestellten Tabellen können die Laufmittel, Sprühreagenzien und UV-Lichtnachweise ersehen werden, die für die jeweils zu untersuchenden und voneinander abzugrenzenden barbitursäurefreien Hypnotika optimal erscheinen.

In einem experimentellen Teil werden ergänzend zwei Hypnotika (Acetyl-diäthylbromacetylarnstoff (Abasin (R)) und Meclozine (Calmonal (R))) dünnschichtchromatographisch in vitro und in vivo untersucht.

Auf Grund der Literaturübersicht und der eigenen Versuche wird zur Verwendung der Papierchromatographie und besonders der Dünnschichtchromatographie im Bereiche der Toxikologie und der Verkehrsmedizin kritisch Stellung genommen.

D. LITERATURVERZEICHNIS

1. Baehler, B.: Revelation par microsublimation de chromatogrammes sur couche mince. *Pharmaceut. acta Helvet.* 39, 457-459 (1964)
2. Bäumler, J.: Papierchromatographischer Nachweis von Barbitursäurederivaten in toxikologischen Analysen. *Mitt. Lebensmitt. Hyg.* 48, 135-145 (1957)
3. Bäumler, J., S. Rippstein: Die Dünnschichtchromatographie als Schnellmethode zur Analyse von Arzneimitteln. *Pharmaceut. acta Helvet.* 36, 382-388 (1961)
4. Bäumler, J., S. Rippstein: Über den Nachweis von Carbromal (Adalin^(R)) und dessen Metaboliten. *Arch. Pharmazie, Weinheim* 296, 301-306 (1963)
5. Beckmann, R., H. H. Kamp: Zur quantitativen Bestimmung und zum qualitativen Nachweis von N-Phtalylglutaminsäure-imid (Thalidomid). *Arzneimittel-Forsch., Aulendorf* 11, 45-47 (1961)
6. Bernhard, K., M. Just u. a.: Über das Verhalten von α -Phenyl- α -äthylglutarimid im Tierkörper.
I. Aktivitäts-Verteilung und -Ausscheidung nach Gaben ¹⁴C signierter Verbindungen an Ratten. *Helv. chim. Acta* 39, 596-606 (1956)
7. Bernhard, K., M. Just u. a.: Über das Verhalten in 5-Stellung methylierter Dioxo-diäthyl-hydro-pyridine im Stoffwechsel. *Helv. chim. Acta* 40, 436-444 (1957)
8. Burger, E.: Untersuchungen zur Identifizierung eines neuen, barbituratfreien Schlafmittels der Zusammensetzung 3-Methyl-3,4-dihydroxy-4-phenylbutin-1 (Centalun^(R)) in der toxikologischen Analyse. - In: *Festschrift Prof. Dr. K. Wagner, Mainz* 1965
9. Burmester, K.: Eine papierchromatographische Methode zum Nachweis kleinster Barbituratmittel mit weitgehender Unterscheidungsmöglichkeit der einzelnen Barbitursäureschlafmittel. *Med. Diss. Hamburg* 1955
10. Butler, C. T.: The metabolic of Carbromal. *J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore* 143, 23-29 (1964)
11. Coclin, J., J. W. Daly: The use of thin-layer chromatography for the analysis of drugs. Isolation and identification of barbiturates and nonbarbiturates hypnotics from urine, blood and tissues. *J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore* 139, 154-159 (1963)
12. Curry, A. S.: The separation of phenobarbitone and diphenylhydantoin by paper chromatography. *Analyst.* 80, 902-903 (1955)

42. Machata, G., W. Kisser: Nachweis von Hydantoinderivaten in der gerichtschemischen Praxis. Arch. Toxikol. 19, 327-337 (1962)
43. Maehly, A. C., M. K. Linturi: Detection of drugs other than barbiturates in the routine method for barbiturate analysis. Acta chem. scand. 16, 283-286 (1962)
44. Mc Mahon, R. E.: The in vivo hydroxylation of 1-Ethinylcyclohexyl-carbamate. J. Amer. chem. Soc. 80, 411-414 (1958)
45. Mohrschulz, W.: Versuche zur papierchromatographischen Differenzierung von Schlafmittelgiften im Urin. Arch. Pharmazie, Weinheim 289, 508-521 (1956)
46. Mohrschulz, W.: Praktische Winke für den Nachweis von Barbitursäurederivaten in pharmazeutischen Zubereitungen. Mitt. Dtsch. Pharmazeut. Ges. 26, 117-122 (1956)
47. Negwer, M.: Organisch-chemische Arzneimittel und ihre Synonyme. 2. Aufl., Stuttgart 1961
48. Neil, M. W., J. E. Payton: Application of the petroleum ethermethanol solvent system to the analysis of common barbiturates by paper chromatography. Med. Sci. Law 2, 4-12 (1961)
49. Paulus, W.: Der dünnsschichtchromatographische Nachweis von einigen Barbituraten und barbituratfreien Schlafmitteln. Arch. Toxikol. 20, 191-193 (1963)
50. Paulus, W., R. Keymer: Der Nachweis von Contergan und Doriden, insbesondere im Leichenmaterial. Arch. Toxikol. 20, 38-43 (1963)
51. Pharmazeutische Stoffliste, 4. Aufl., Frankfurt/M. 1964
52. Preuss, F. R., R. Kopp: Zur Analytik des 1-Äthinyl-cyclohexyl-carbamats (Valamin ^(R)) und des 1-Äthinyl-cyclohexyl-allophanats (Dolcental ^(R)). Arzneimittel-Forsch., Aulendorf 8, 412-416 (1958)
53. Preuss, F. R., R. Kopp: Zur Analytik der renalen Ausscheidungsprodukte des 1-Äthinyl-cyclohexyl-carbamats (Valamin ^(R)) und des 1-Äthinyl-cyclohexyl-allophanats (Dolcental ^(R)). Arzneimittel-Forsch., Aulendorf 9, 255-262 (1959)
54. Preuss, F. R., R. Kopp: Zum Stoffwechsel des 1-Äthinyl-cyclohexyl-carbamats (Valamin ^(R)) und des 1-Äthinyl-cyclohexyl-allophanats (Dolcental ^(R)) und zur Struktur der Metaboliten Valamin 1 und Dolcental 1. Arzneimittel-Forsch., Aulendorf 9, 785-790 (1958)
55. Preuss, F. R., R. Kopp: Zur Analytik des 1-Äthinyl-cyclohexyl-carbamats (Valamin ^(R)) und des 1-Äthinyl-cyclohexyl-allophanats (Dolcental ^(R)) sowie ihrer Stoffwechselprodukte. Mittl. Bl. GDCH-Fachgr. Lebensmittelchem. 13, 69-70 (1959)

56. Preuss, F.R., E. Mayer: Zur Isolierung und Identifizierung des 1-Äthynyl-cyclohexyl-carbamats (Valamin ^(R)) und seiner Stoffwechselprodukte. Arch. Toxikol. 18, 243-252 (1960)
57. Pribilla, O.: Studien zur Toxikologie der Schlafmittel aus der Tetrahydro-pyridin und -Piperidin-Reihe. Arch. Toxikol. 18, 1-86 (1959)
58. Probst, H.: Beiträge zur Analytik basisch substituierter Barbitursäuren und zur Bildung der Äthylidialursäure. Med. Diss. Leipzig 1964
59. Randall, L.O., V. Iliev u. a.: Metabolism of Methyprylon. Arch. internat. pharmacodyn. therap., Cand. 106, 388-394 (1956)
60. Reinart, E.F.: Über die Einwirkung von Medikamenten bei 500 Kraftfahrzeugunfällen in Frankfurt/M. Med. Diss. Mainz 1962
61. Rote Liste 1965. Verzeichnis pharmazeutischer Spezialpräparate, Aulendorf 1965
62. Sato, K.: Identification of nonbarbiturate sedatives in urine. Kagaku Keisatsu Kenkyusko Hokoku 15, 237-243 (1962)
63. Scheibl, F.: Beitrag zum Nachweis von Valamin, Persedon und Doriden bei forensischen Untersuchungen. Arch. Toxikol. 17, 357-364 (1959)
64. Schmidlin-Mészáros, J.: Erfahrungen mit der Papierchromatographie bei toxikologischen Untersuchungen. Chimia, Zürich 12, 275-281 (1958)
65. Schmidt, G.: Papierchromatographische Vorprobe bei der toxikologischen Harnanalyse. Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. 49, 259-280 (1959)
66. Schmidt, G.: Forensisch wichtige Fragen der Barbituratausscheidung im Harn. Arzneimittel-Forsch., Aulendorf 12, 1081-1085 (1962)
67. Sheppard, H., B. D'Asaro: The detection of Glutetimide (Doriden ^(R)) and a metabolite in dog urine. J. Amer. Pharmaceut. Ass. (Sc. Ed.) 10, 681-684 (1956)
68. Stahl, E.: Dünnschichtchromatographie. Ein Laboratoriumshandbuch. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962
69. Stainier, C., C. Lapière u. a.: Les barbituriques: Recherche et dosage dans les préparations pharmaceutiques. Ann. pharmaceut. franç. 14, 384-398 (1956)
70. Uhlmann, H.J.: Dünnschichtchromatographische Bestimmung von Schlafmitteln. Pharmaz. Ztg., Berlin 109, 1998-2000 (1964)
71. Vercruysse, A.: Chromatography of Doriden (o-Phenyl- α -ethylglutaramide) in Postmortem material on coated glass sheets. J. pharmacie Belg. 18, 569-574 (1963)
72. Vidic, E.: Papierchromatographische und spektralphotometrische Identifizierung barbitursäurefreier Sedativa, insbesondere von Meprobramat. Arch. Toxikol. 17, 373-386 (1959)

73. Vidic, E.: Der Nachweis von Arzneistoffen im Körper auffällig gewordener Verkehrsteilnehmer. Mitt. Dt. sch. Ges. Verkehrsmed. 8, 51-70 (1960)
74. Vidic, E., K. Goebel: Nachweis der renalen Ausscheidungsprodukte von Schlafmitteln. Arch. Toxikol. 19, 85-111 (1961)
75. Wagner, H. J.: Die Bedeutung der Untersuchung von Blut bzw. Harnproben auf Arzneimittel nach Verkehrsunfällen auf Grund der Überprüfung von 2060 Personen. Arzneimittel-Forsch., Aulendorf 11, 992-995, (1961)
76. Wagner, H. J.: Untersuchungen über das Ausmaß der Medikamenteneinnahme bei Kraftfahrern. Hft. Unfallheilk. 71, 154-159 (1961)
77. Wagner, H. J.: Die forensische Bedeutung rezeptfreier Sedativa und Hypnotika. Acta med. leg., Bruxelles 17, 11-20 (1964)
78. Wagner, H. J.: Forensische Aspekte zum Thema "Arzneimittel und Verkehrssicherheit". Aktuelle Probleme der Verkehrsmed. 2, 125-133 (1965)
79. Wagner, K., H. J. Wagner: Mißbrauch und Sucht im Hinblick auf den Verkehr. - In: Sucht und Mißbrauch (Hrsg. v. F. Laubenthal), Stuttgart 1964, S. 402-423
80. Wollmann, C., D. Schulz: Papierchromatographischer Nachweis von Pentinol (R) und Dormutal (R). Pharm. Prax., Berlin 7, 128-130 (1963)

Nachschlagewerke:

- a) Internationale Bibliographie der Zeitschriftenliteratur. Abt. A und B (1954 bis einschl. 1964).
Ab 1965: Internationale Bibliographie der Zeitschriftenliteratur aus allen Gebieten des Wissens (kombinierte Folge).
- b) Quaterly Cumulative Index Medicus (1954 bis einschließlich 1956).
Current List of Medical Literature (1957-1959).
Cumulated Index Medicus (1960-1965).
- c) Jahresverzeichnis der deutschen Hochschulschriften (1954-1963).

LEBENS LAUF

Am 21. Januar 1941 wurde ich, Jürgen Hölzinger, als Sohn des aktiven Offiziers Kurt Hölzinger und seiner Ehefrau Irene, geb. Höfling, in Wiesbaden geboren.

Im selben Jahr fiel mein Vater in Rußland. Von Herbst 1947 bis Ostern 1952 besuchte ich in Wiesbaden die Volksschule, danach am gleichen Ort die Diltheyschule (altsprachliches Gymnasium), wo ich im März 1961 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1961 begann ich mit dem Medizinstudium an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Hier bestand ich im April 1962 das Vorphysikum und im Juli 1963 das Physikum. Im Anschluß daran studierte ich im Wintersemester 1963/64 an der Freien Universität in Berlin, ab Sommersemester 1964 war ich wieder in Mainz immatrikuliert und beendete hier am 17. Juli 1967 das Staatsexamen.

